

Aus dem Medizinischen Zentrum für Hautkrankheiten  
der Philipps-Universität Marburg  
Klinik für Dermatologie und Allergologie  
Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. Rudolf Happle

## **Evaluation und Standardisierung von Hauttestungen zur Diagnostik der irritativen Kontaktdermatitis**



Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin  
dem Fachbereich Humanmedizin der Philipps-Universität Marburg vorgelegt  
von

**Kerstin Luise Gebhard**

aus

Lauf an der Pegnitz

Marburg 2004

Angenommen vom Fachbereich Humanmedizin  
der Philipps-Universität Marburg am  
19.02.2004

gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs

Dekan: Prof. Dr. Bernhard Maisch  
Referent: Prof. Dr. Isaak Effendy  
Korreferent: PD Dr. Udo Herz

In Dankbarkeit meinen Eltern gewidmet

## Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis .....	I
Darstellungsverzeichnis.....	IV
Abkürzungsverzeichnis.....	VI
Formelverzeichnis.....	VII
1 Einleitung.....	1
1.1 Problemstellung.....	1
1.2 Die irritative Kontaktdermatitis.....	1
1.2.1 Definitionen .....	1
1.2.2 Epidimiologie.....	2
1.2.3 Pathogenese .....	3
1.2.4 Krankheitsbild.....	7
1.2.5 Diagnostische Methoden/ Epikutantest mit Natriumlaurylsulfat (NLS).....	8
1.2.6 Bisherige Standardisierungsversuche des epikutanen NLS-Test .....	20
1.2.7 Therapie und Prognose.....	20
1.2.8 Prävention .....	21
1.3 Hautphysiologische Untersuchungsmethoden .....	22
1.3.1 Messung des transepidermalen Wasserverlustes (TEWL) .....	23
1.3.2 Messung des Erythem-Index .....	26
1.3.3 Messung der Hydration .....	26
1.4 Visuelle Bewertung der Testreaktionen.....	28
1.5 Einflußgrößen auf den TEWL und dessen Messungen.....	28
1.5.1 Individuelle Faktoren .....	28
1.5.2 Klimatische Faktoren.....	32
1.6 Ableitung der Fragestellung .....	35
1.7 Hypothesen .....	37
2 Material und Methode.....	38
2.1 Material.....	38
2.1.1 Probanden.....	38
2.1.2 Testareal .....	39
2.1.3 Testsubstanzen.....	39
2.1.4 Testkammern .....	39
2.1.5 Testgeräte .....	40
2.1.6 Meßgeräte.....	42
2.2 Methode .....	44
2.2.1 Anamnese der Probanden .....	44

---

2.2.2	Basismessungen.....	44
2.2.3	Vorbehandlung der Teststellen .....	44
2.2.4	Epikutantest .....	46
2.2.5	Meßzeitraum .....	47
2.2.6	Standardisierung der Testbedingungen .....	48
2.2.7	Sondertesting.....	49
2.3	Statistik.....	50
2.4	Methodenkritik.....	50
3	Ergebnisse.....	52
3.1	Definitionen und Verwendung von Begriffen .....	52
3.2	Statistische Vorgehensweise .....	53
3.3	Ergebnisse der Sondertesting.....	53
3.4	Fehlerbetrachtung der biophysikalischen Untersuchungsmethoden.....	54
3.5	Betrachtung absoluter/ relativer Werte .....	55
3.6	Ergebnisdarstellung der einzelnen Untersuchungsmethoden.....	57
3.6.1	TEWL .....	57
3.6.2	Visueller Score .....	61
3.6.3	Erythem-Index.....	66
3.6.4	Hydration.....	68
3.7	Übergreifende Thesenbetrachtung.....	71
3.7.1	Zusammenhang Basis-TEWL-Werte und Reaktionsstärke (H1 <sub>0</sub> ) .....	71
3.7.2	Standardisierbarkeit des NLS-Test durch Vorbehandlungen (H2 <sub>0</sub> ).....	71
3.7.3	Verkürzung des NLS-Test auf 4 Stunden (H3 <sub>0</sub> ) .....	74
3.7.4	Notwendigkeit wiederholter TEWL-Messungen (H4 <sub>0</sub> ).....	74
3.7.5	Korrelation TEWL und visueller Score (H5 <sub>0</sub> ).....	75
3.7.6	Korrelation TEWL und Hydration (H6 <sub>0</sub> ) .....	75
3.7.7	Korrelation Erythem-Index und visueller Score (H7 <sub>0</sub> ).....	76
3.8	Spezielle Auswertung des 4-Stunden NLS-Test .....	77
4	Diskussion .....	79
4.1	Notwendigkeit der Basis-TEWL-Messung.....	79
4.2	Anwendung verschiedener Vorbehandlungen .....	79
4.2.1	Vorbehandlungen aus Sicht des TEWL .....	80
4.2.2	Vorbehandlungen aus Sicht des visuellen Score .....	85
4.2.3	Vorbehandlungen aus Sicht des Erythem-Index.....	87
4.2.4	Vorbehandlungen aus Sicht der Hydration .....	87
4.2.5	Übergreifende Diskussion verschiedener Vorbehandlungen .....	88
4.3	4-Stunden NLS-Test.....	89

---

4.4	Übergreifende Diskussion und klinischer Ausblick .....	95
5	Zusammenfassung .....	98
	Literaturverzeichnis.....	100
	Anhang .....	115
	Tabellenverzeichnis des Anhangs .....	115
	Tabellen .....	116
	Zeichnung Inzisionsgerät .....	125

## Darstellungsverzeichnis

Darstellung 1: Einflußfaktoren der IKD .....	4
Darstellung 2: Irritatives Kontaktekzem am Handteller .....	8
Darstellung 3: Krankheitsbild der IKD nach Löffler et al. (2000) .....	15
Darstellung 4: Ein- und Ausschlußkriterien der Studie .....	38
Darstellung 5: Testpflaster Finn-Chamber on Scanpor® .....	39
Darstellung 6: Testgeräte: Lanzette und Teststempel (v. l. n. r.) .....	40
Darstellung 7a: Inzisionsgerät: Skalpellhalter, Auflage-, Justierplatte (v.l.n.r) .....	41
Darstellung 7b: Inzisionsgerät: Skalpellhalterung mit Skalpell .....	41
Darstellung 7c: Standardisiertes Inzisionsgerät .....	41
Darstellung 8a (li.): TEWAMETER TM 210® .....	42
Darstellung 8b (re.): Meßsonde TEWAMETER TM 210® .....	42
Darstellung 9: MEXAMETER MX 16® .....	43
Darstellung 10: CORNEOMETER CM 820® .....	43
Darstellung 11: Scratch-Muster für die Skarifikation (VB 4) und Inzision (VB 5) .....	45
Darstellung 12a (li.): Histologische Darstellung der Inzision bei VB 5 (Übersicht) .....	46
Darstellung 12b (re.): Histologie der Inzision bei VB 5 (Detailansicht) .....	46
Darstellung 13: Applikations-Schema des Epikutantest .....	47
Darstellung 14: Visueller Score zur Bewertung der irritativen Testreaktion .....	48
Darstellung 15: Plexiglas-Meßschutzvorrichtung für TEWL-Messungen am Rücken ..	49
Darstellung 16a (li.): Sondertestung; Vergleich aqua dest./ NLS 4 h bei VB 1, 5 .....	54
Darstellung 16b (re.): Sondertestung; Vergleich aqua dest./ NLS 24 h bei VB 1, 5 .....	54
Darstellung 17a (li.): Zeitvergleich absoluter/ relativer TEWL-Werte (einfaktoriell) .....	56
Darstellung 17b (re.): Absoluter/ relativer TEWL nach Konzentrationen (einfaktoriell) .....	56
Darstellung 17c: Absoluter/ relativer TEWL verschiedener VB (einfaktoriell) .....	57
Darstellung 18a (li.): Zeitverlauf des TEWL der 4-h-Testreihe (einfaktoriell) .....	58
Darstellung 18b (re.): Zeitverlauf des TEWL der 24-h-Testreihe (einfaktoriell) .....	58
Darstellung 19a (li.): TEWL nach Konzentrationen 4-h-Testreihe (einfaktoriell) .....	59
Darstellung 19b (re.): TEWL nach Konzentrationen 24-h-Testreihe (einfaktoriell) .....	59
Darstellung 20a (li.): Zeitverlauf des TEWL der 4-h-Testreihe bei 2 % NLS .....	60
Darstellung 20b (re.): Zeitverlauf des TEWL 4-h-Testreihe bei 5 % NLS .....	60
Darstellung 21a (li.): TEWL verschiedener VB 4-h-Testreihe (einfaktoriell) .....	60
Darstellung 21b (re.): TEWL verschiedener VB 24-h-Testreihe (einfaktoriell) .....	60
Darstellung 22a (li.): Zeitverlauf des VS der 4-h-Testreihe (einfaktoriell) .....	62
Darstellung 22b (re.): Zeitverlauf des VS der 24-h-Testreihe (einfaktoriell) .....	62

---

---

Darstellung 23a (li.): Visuelle Reaktionen nach 4 h .....	63
Darstellung 23b (re.): Visuelle Reaktionen nach 24 h .....	63
Darstellung 23c: Visuelle Reaktionen nach 72 h .....	63
Darstellung 24a (li.): VS nach Konzentrationen 4-h-Testreihe (einfaktoriell).....	64
Darstellung 24b (re.): VS nach Konzentrationen 24-h-Testreihe (einfaktoriell) .....	64
Darstellung 25a (li.): Vergleich VS 2 und 5 % NLS unter VB 5 bei 24 h (v. l. n. r.).....	64
Darstellung 25b (re.): Vergleich VS 2 und 5 % NLS unter VB 5 bei 72 h (v. l. n. r.) .....	64
Darstellung 26a (li.): VS verschiedener VB der 4-h-Testreihe (einfaktoriell) .....	65
Darstellung 26b (re.): VS verschiedener VB der 24-h-Testreihe (einfaktoriell).....	65
Darstellung 27a (li.): Zeitverlauf des VS 4-h-Testreihe bei VB 1 .....	66
Darstellung 27b (re.): Zeitverlauf des VS 4-h-Testreihe bei VB 5.....	66
Darstellung 28a (li.): Zeitverlauf des EI der 4-h-Testreihe (einfaktoriell) .....	66
Darstellung 28b (re.): Zeitverlauf des EI der 24-h-Testreihe (einfaktoriell).....	66
Darstellung 29a (li.): EI nach Konzentrationen 4-h-Testreihe (einfaktoriell) .....	67
Darstellung 29b (re.): EI nach Konzentrationen 24-h-Testreihe (einfaktoriell).....	67
Darstellung 30a (li.): EI verschiedener VB der 4-h-Testreihe (einfaktoriell).....	68
Darstellung 30b (re.): EI verschiedener VB der 24-h-Testreihe (einfaktoriell).....	68
Darstellung 31a (li.): Zeitverlauf der HY der 4-h-Testreihe (einfaktoriell) .....	69
Darstellung 31b (re.): Zeitverlauf der HY der 24-h-Testreihe (einfaktoriell).....	69
Darstellung 32a (li.): HY nach Konzentrationen 4-h-Testreihe (einfaktoriell).....	69
Darstellung 32b (re.): HY nach Konzentrationen 24-h-Testreihe (einfaktoriell) .....	69
Darstellung 33 a (li.): HY verschiedener VB der 4-h-Testreihe (einfaktoriell) .....	70
Darstellung 33b (re.): HY verschiedener VB der 24-h-Testreihe (einfaktoriell) .....	70
Darstellung 34a (li.): Testreaktionen VB 1 - 3 unter 5 % NLS bei 24 h (v. l. n. r) .....	72
Darstellung 34b (re.): Testreaktionen VB 4 - 5 unter 5 % NLS bei 24 h (v. l. n. r.).....	72
Darstellung 35a (li.): TEWL-Werte bei 2 % NLS zu 4 h .....	73
Darstellung 35b (re.): TEWL-Werte bei 5 % NLS zu 4 h .....	73
Darstellung 36a (li.): Zeitverlauf der TEWL-Werte 4-h-Testreihe unter VB 1 .....	73
Darstellung 36b (re.): Zeitverlauf der TEWL-Werte 4-h-Testreihe unter VB 5.....	73
Darstellung 37: Korrelation TEWL und VS (einfaktoriell).....	75
Darstellung 38: Korrelation TEWL und HY (Variable Zeit zu 72 h).....	76
Darstellung 39: Korrelation EI und VS (einfaktoriell) .....	76
Darstellung 40a: Zeitverläufe des TEWL der 4-h-Testreihe verschiedener VB .....	80
Darstellung 40b: Zeitverläufe des TEWL der 24-h-Testreihe verschiedener VB .....	81

---



## Abkürzungsverzeichnis

AIKD	Akut irritative Kontaktdermatitis
AKD	Allergische Kontaktdermatitis
aqua dest.	Aqua destillata
c	Konzentration
CIDK	Chronisch irritative Kontaktdermatitis
EI	Erythem-Index
ESCD	European Society of Contact Dermatitis
h	Stunden
HY	Hydration
IKD	Irritative Kontaktdermatitis
KD	Kontaktdermatitis
KE	Kontaktekzem
LD	Laser-Doppler-Rheometrie
li.	Links
Max.	Maximum
Min.	Minimum
NLS	Natriumlaurylsulfat
NS	Nicht signifikant
p	Irrtumswahrscheinlichkeit/ Signifikanzniveau
r	Korrelation
rh	Relative Luftfeuchtigkeit
re.	Rechts
s	Standardabweichung
TEWL	Transepidermaler Wasserverlust
VB	Vorbehandlung
v.l.n.r	Von links nach rechts
VS	Visueller Score
WPB	Wasserpermeabilitätsbarriere
x	Mittelwert

## Formelverzeichnis

Formel 1: Formel von Schreus .....	6
Formel 2: Fick'sches Diffusionsgesetz .....	23
Formel 3a: Partialdruck (allgemein) .....	24
Formel 3b: Partialdruck (temperaturabhängig) .....	24
Formel 4: Berechnung des Erythem-Index .....	26
Formel 5: Kapazitätsmessung über dem Meßkondensator .....	27
Formel 6: Formel zur Berücksichtigung des Meßfehlers der Meßgeräte .....	54

# **1 Einleitung**

## **1.1 Problemstellung**

Die irritative Kontaktdermatitis (IKD) ist eine im klinischen Alltag häufig anzutreffende Erkrankung, deren Diagnostik jedoch, aufgrund ihres morphologisch sehr ähnlichen Erscheinungsbildes zur allergischen Kontaktdermatitis (AKD) (Björnberg, 1968) und anderen dermatologischen Krankheitsbildern, oft sehr schwierig ist. Zur Erleichterung der Diagnostik werden routinemäßig epikutane Irritationstests durchgeführt. Mit Hilfe solcher Tests kann die Diagnosestellung einer IKD vereinfacht, aber auch frühzeitig Hautrisikogruppen identifiziert werden. Ein Standardtest ist hier der Natriumlaurylsulfat (NLS)-Test. Dieser Test besteht klassischer Weise aus einer 24-stündigen Applikation okklusiver Testpflaster, die mit einer 0,5 %-igen NLS-Lösung in aqua destillata (aqua dest.) getränkt sind.

Zur objektiven Messung der Testergebnisse stehen verschiedene nicht-invasive hautphysiologische Meßmethoden zur Verfügung, z.B. die Messung des transepidermalen Wasserverlustes (TEWL).

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, die Applikationszeit des NLS-Tests bei gleichbleibend hoher Aussagekraft zu verkürzen und damit die Praktikabilität im Klinikalltag zu verbessern. Diese zeitliche Verkürzung kann durch die Variation der Applikationsdauer, die Verwendung verschiedener NLS-Konzentrationen und die Anwendung verschiedener Vorbehandlungs-Techniken vor Testapplikation erzielt werden. Durch eine kürzere Testdauer könnte die zeitaufwendige Diagnostik sowohl vereinfacht, als auch für den Patienten angenehmer gestaltet werden.

## **1.2 Die irritative Kontaktdermatitis**

### **1.2.1 Definitionen**

Die IKD ist definiert als nicht-immunologische Entzündungsreaktion der Haut auf äußere Reize. Die Reaktion kann sich als akute Dermatitis oder chronisch irritatives Kontaktekzem (KE) manifestieren (Frosch, 1992). Man unterscheidet je nach klinischem Bild eine akute von einer chronischen Form der IKD.

### **1.2.1.1 Akute Form der irritativen Kontaktdermatitis**

Die akute irritative Kontaktdermatitis (AIKD) ist eine akut toxische Reaktion, die sich nach äußerlichem Kontakt mit exogenen, primär obligat-toxischen Noxen, bei normaler Hautempfindlichkeit entwickelt (Braun-Falco et al., 1995). Sie ist meist nur durch einen einzigen Auslöser bedingt und tritt innerhalb von Stunden (h) auf.

### **1.2.1.2 Chronische Form der irritativen Kontaktdermatitis**

Die chronisch irritative Kontaktdermatitis (CIKD) ist klassischer Weise multifaktoriell bedingt. Sie entwickelt sich aufgrund eines Summationseffektes, d.h. nach wiederholter Einwirkung von primär nicht obligat-toxischen Substanzen in geringen, primär nicht schädigenden Konzentrationen über einen längeren Zeitraum bei entsprechend individueller Ekzembereitschaft (Braun-Falco et al., 1995). Die CIKD ist somit durch einen langsamen Verlauf gekennzeichnet. Die hierfür verwendeten Begriffe chronisch irritatives, toxisch-degeneratives und kumulativ-toxisches KE werden in der Literatur synonym verwandt.

## **1.2.2 Epidemiologie**

Es finden sich sehr unterschiedliche Angaben zur Häufigkeit der IKD. Dies liegt nicht zuletzt an der Schwierigkeit der Differentialdiagnose „Ekzem“ und der klinischen Zuordnung zu allergisch oder irritativ bedingter Kontaktdermatitis (KD).

Zwischen 20 - 70 % aller Berufskrankheiten sind Hauterkrankungen, wovon 20 - 90 % auf die IKD entfallen (Wahlberg, 1996). In Europa lag der Anteil der Dermatosen an den Berufskrankheiten 1995 bei 30 %. Hiervon handelte es sich in 90 % der Fälle um ein KE, wovon wiederum 50 % auf das allergische und 50 % auf das irritative KE entfielen (Orfanos et al., 1995). Der ökonomische Schaden durch die IKD wird daher als sehr hoch eingeschätzt (Diepgen et al., 1999).

Die Entwicklung einer IKD wird vor allem durch Arbeit in feuchtem Milieu begünstigt (Meding et al., 1990; Orfanos et al., 1995), wobei die Feuchtigkeit an sich als wichtigstes Irritans vermutet wird (Diepgen et al., 1999). Dies wird durch die auffällige Häufung (80 %) besonders exponierter Körperregionen wie Hand und Unterarm deutlich.

Bei Betrachtung verschiedener Berufsgruppen zeigen sich erhebliche Unterschiede in der Prävalenz und Ekzemausprägung der IKD. Friseure, Metallarbeiter, Bäcker, Heil- und Pflegeberufe, Bauberufe und Berufe mit Tätigkeiten in überwiegend feuchtem Milieu sind am Häufigsten betroffen und zeigen ein erhöhtes Inzidenzrisiko (Frosch et al., 1996; Dickel et al., 2002).

Die IKD ist insgesamt vermutlich wesentlich häufiger als die AKD. Sie wird allerdings aufgrund ihrer diagnostischen Schwierigkeiten noch immer unterbewertet (Frosch et al., 1996a). Diverse Studien (Bäurle et al., 1985; Meding et al., 1990; Diepgen et al., 1991) kamen zum Ergebnis, daß die IKD eine der häufigsten Ursachen für Ekzemerkrankungen darstellt. Bei Bäuerle et al. (1985) war die IKD an zweiter Stelle mit 24,2 % der Patienten vertreten, bei Diepgen et al. (1991) fand sich in 21 % der Kontaktdermatiden eine irritative Ursache.

Eine schwedische Industriestudie von Meding et al. (1990), in der 20.000 Einwohner im Alter von 20 bis 65 Jahren zu Ekzemerkrankungen befragt wurden, registrierte eine Inzidenz der KD von 11 %. Mit 35 % lag hier die IKD weit vor der AKD mit 19 %.

In den meisten Untersuchungen nimmt die IKD somit eine Position vor der AKD ein. Die Untersucher beschrieben jedoch in vielen Fällen Mischformen, so daß jeweils nach dem klinisch eindeutigsten Merkmal bewertet wurde. Dies macht die fließenden Übergänge zwischen den einzelnen Ekzemformen deutlich (Löffler et al., 2000).

Meding et al. (1990) beobachteten darüber hinaus, daß Frauen doppelt so häufig erkranken als Männer. Trotz dieser Erkenntnis konnten bei Irritationstestungen keine erhöhten Anfälligkeiten weiblicher Personen nachgewiesen werden (van der Valk et al., 1984; Lammintausta et al., 1987; Tupker et al., 1989; Agner, 1991a).

### **1.2.3 Pathogenese**

#### **1.2.3.1 Ätiologie**

Bei der **AIKD** führen sehr starke Irritantien innerhalb weniger Minuten, unabhängig von anderen Einflüssen, zu Entzündungsreaktionen, Blasen und Gewebnekrosen. Bei schwächeren Irritantien sind vor allem biophysikalische Parameter, sogenannte exogene Faktoren (siehe Darstellung 1) ausschlaggebend.

Individuelle, sogenannte endogene Faktoren spielen bei der AIDK keine bzw. eine sehr untergeordnete Rolle. Zuerst entwickelt sich eine rein toxische Reaktion auf das Irritans, gefolgt vom Bild einer IKD.

Die **CIKD** entsteht langsam und durch wiederholten Kontakt mit irritativen Substanzen. Es handelt sich um Irritationen, die klinisch vorerst inapparent bleiben. Erst durch das Zusammenspiel mehrerer Faktoren, als sogenannter Summationseffekt bekannt, entsteht eine klinisch manifeste KD. Es muß demnach ein Schwellenwert überschritten werden, ehe eine CIKD auftritt. Eine wichtige Rolle kommt hier den individuell prädisponierenden Faktoren wie auch exogenen Einflüssen, z.B. mechanischen, thermischen und klimatischen Faktoren, zu. Die Kombination und Wechselwirkung dieser Kofaktoren ist also letztlich entscheidend für die Ausprägung der KD. Die CIKD entsteht sehr langsam und es dauert meist Monate bis Jahre bis sich das Vollbild der Erkrankung zeigt.

Die Entstehung und das Spektrum des toxisch-kumulativen KE steht in Abhängigkeit zu folgenden exogenen und endogenen Faktoren (Darstellung 1):

Exogene Faktoren	Endogene Faktoren
<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Irritants (chemische Struktur, pH-Wert)</li> <li>▪ Menge des penetrierten Irritants</li> <li>▪ Konzentration des Irritants</li> <li>▪ Reinheit des Irritants</li> <li>▪ Löslichkeit des Irritants</li> <li>▪ Vehikel des Irritants</li> <li>▪ Temperatur des Irritants</li> <li>▪ Zeit und Art des Kontakts bzw. der Applikation</li> <li>▪ Körperregion</li> <li>▪ Körpertemperatur</li> <li>▪ Klimatische Bedingungen (Temperatur, Luftfeuchtigkeit, Wind)</li> <li>▪ Mechanische Faktoren (Druck, Reibung, Abrasion)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Individuelle Hautempfindlichkeit für das Irritans; genetische Disposition</li> <li>▪ Atopie, v.a. manifeste atopische Dermatitis</li> <li>▪ Alter</li> <li>▪ Hauttrockenheit</li> <li>▪ Hautempfindlichkeit</li> <li>▪ Hauttyp; Empfindlichkeit für UV-Licht</li> <li>▪ Fettgehalt der Haut</li> <li>▪ Empfindliche Haut (primär hyperirritabel)</li> <li>▪ Sekundäre Hyperirritabilität (Status ekzematicus)</li> <li>▪ Unfähigkeit zur Abhärtung der Haut (Hardening-Phänomen)</li> <li>▪ Ethnische Zugehörigkeit</li> </ul>

Darstellung 1: Einflußfaktoren der IKD

### **1.2.3.2 Barrierefunktion der Haut**

Das Stratum corneum der Epidermis dient als wichtigste Wasserpermeabilitätsbarriere (WPB) der Haut (Blank, 1952). Ist diese geschädigt, wird die Penetration von löslichen Stoffen in die Haut erleichtert und es resultiert eine erhöhte Verdunstung von Feuchtigkeit nach außen, was zu Austrocknung, rissiger und empfindlicher Haut führt.

Desweiteren spielt die Hautdicke für die Barriere- und Schutzfunktion eine wichtige Rolle. Je dicker die Haut bzw. das Stratum corneum der Epidermis, umso geringer ist gemäß dem Fick'schen Diffusionsgesetz die Penetration durch die Haut (Löffler et al., 2000).

In Zusammenhang mit der Entstehung einer IKD sind für die Barrierefunktion der Haut auch von Bedeutung:

- **PUFFERKAPAZITÄT DER HAUT**

Der pH-Wert von ca. 5,7 kann schwach alkalische Substanzen neutralisieren und gering konzentrierte Säuren abpuffern. Ist diese Pufferkapazität erschöpft kommt es zur Schädigung tieferer Epidermisschichten.

- **WASSERBINDUNGSVERMÖGEN DER HAUT**

Die im Stratum corneum befindlichen Nicht-Keratinstoffe, die beim Zelluntergang im Rahmen der Verhornung entstehen, werden für das Wasserbindungsvermögen verantwortlich gemacht und schützen vor Austrocknung. Werden diese Stoffe, z.B. Aminosäuren, Zucker, Proteine, Lipidbestandteile, herausgelöst, nimmt das Wasserbindungsvermögen ab.

- **LIPIDFILM DER HAUT**

Der durch die Spreitung von Hauttalg und epidermaler Lipide entstehende Lipidfilm der Haut besitzt antimikrobielle Eigenschaften. Findet ein ständiger Kontakt mit entfettenden Substanzen und Feuchtigkeit statt, entsteht ein Mißverhältnis zwischen Entfettung und körpereigener Rückfettung.

Resultat einer Schädigung dieser Schutzbarrieren ist eine trockene, rauhe und zur Schuppung neigende Haut mit erhöhter Entzündungsbereitschaft.

### **1.2.3.3 Ätiopathogenese**

Man weiß bisher nur wenig über die Mechanismen, die zu einer manifesten IKD führen. Am besten untersucht ist hier die Stoffgruppe der Detergenzien, insbesondere die der anionischen Detergenzien, z.B. das NLS.

Entscheidend für die Penetration durch die Haut ist das Stratum corneum mit seinen morphologischen und chemischen Zusammensetzungen: Dicke, Dichte, Anordnung der Korneozyten, Keratin, epidermalen Lipiden und dem Oberflächenfilm (Braun-Falco et al., 1995). Für die Reaktion auf ein Irritants und die Veränderungen in Epidermis und Dermis sind daher der Penetrationsweg durch das Stratum corneum und die Interaktion mit den epidermalen Strukturen entscheidend (Frosch et al., 1996a). So führt ein Irritants je nach chemischer Struktur und Eigenschaften zu unterschiedlich morphologischen Veränderungen (Willis et al., 1989) (siehe Darstellung 3). Es wird jedoch gemutmaßt, daß die Reaktion zum Teil auch von den Schichten unterhalb des Stratum corneum abhängig ist (Tupker et al., 1997).

Häufiger Kontakt mit Wasser kann selbst eine Schädigung der Barrierefunktion verursachen und die Entstehung einer KD begünstigen.

Ein klassisches Beispiel für die Pathogenese irritativer Kontaktdermatiden bietet beispielsweise die Berufsgruppe Reinigungspersonal: Wasser und Detergenzien schädigen bei jedem Kontakt den Lipidfilm der Haut, wonach sich nach einiger Zeit die Lipidschicht des Stratum corneum verändert (Fartasch, 1995, 1997). Durch die Abnahme der WPB kommt es zu immer stärkerer Austrocknung der Epidermis und zum Auftreten feiner Schuppung. Die Irritantien dringen ungehindert in die Epidermis ein, schädigen die Keratinozyten und die histologischen und immunologischen Veränderungen werden in Gang gesetzt.

Die histologischen und immunologischen Mechanismen der irritativen Reaktion werden in den Kapiteln 1.2.5.3 und 1.2.5.4 detailliert erläutert.

Der Zusammenhang von Konzentration (c) und Einwirkzeit (t) spielt bei der IKD eine besondere Rolle und kann näherungsweise durch die Formel von Schreus beschrieben werden (Schreus, 1939; Kühl et al., 1990).

c: = Konzentration

t: = Applikationsdauer

K: = Konstante Testreaktion

n: = Regenerationsfähigkeit der Haut

$$K = c * t^{n < 1}$$

**Formel 1: Formel von Schreus**

Hieraus läßt sich folgern, daß bei niedriger Konzentration (c) die Einwirkzeit (t) verlängert werden muß, um die gleiche Reaktion (K) zu erzielen. Eine Verlängerung



der Einwirkzeit muß aber überproportional zur Konzentrationsminderung sein, da die Hautschutz- und Reparaturmechanismen bei längerer Applikationsdauer von geringen Konzentrationen stärker zum Tragen kommen; dieser Sachverhalt findet sich im Exponenten  $n < 1$  wieder. Nach kürzlich veröffentlichten Daten von Aramaki et al. (2001b) kann dieser Exponent für die jeweiligen Meßergebnisse nach bestimmten statistischen Verfahren errechnet werden.

#### **1.2.3.4 Regeneration der geschädigten Haut nach einer IKD**

Die Heilungszeit der CIKD ist definiert als der Zeitraum bis die Haut funktionell und klinisch wieder als gesund bewertet wird und mittels hautphysiologischer Methoden wieder Normwerte gemessen werden (Lee et al., 1997).

Die hierzu beschriebenen Zeitintervalle zeigen eine große Spannweite. Tupker et al. (1990b) gehen von 10 Tagen nach akuter Irritation aus. Wilhelm et al. (1994) beschreiben eine Regenerationsdauer des TEWL-Wertes von 14 Tagen. Choi et al. (2000) hingegen beobachteten nach einer Standardtestung mit 1 % NLS-Lösung sogar eine Heilungsdauer von mehr als 10 Wochen.

### **1.2.4 Krankheitsbild**

#### **1.2.4.1 Klinisches Erscheinungsbild**

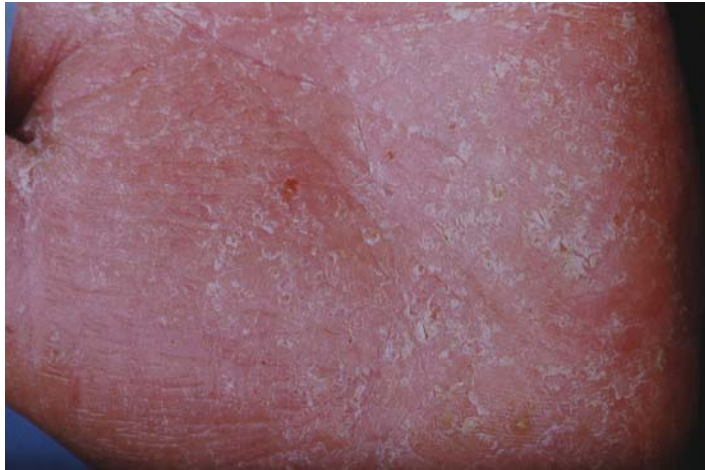
Die **AIKD** hat ein monomorphes Erscheinungsbild. Das klinische Spektrum der Entzündungsreaktionen ist abhängig von der Art der Noxe und den Einwirkparametern. Bei schwächeren Irritationen sieht man Ödem, Erythem, Einblutungen, Urticae, Austrocknung, Erosionen und Pusteln. Stärkere Noxen können auch zu Blasenbildung und Nekrosen führen. Die Reaktion ist stets scharf begrenzt und beschränkt sich ausschließlich auf den Ort der Einwirkung.

Die **CIKD** zeigt ein ekzematöses Bild, welches sehr unterschiedlich aussehen kann, bis hin zum Auftreten von Mischformen zwischen allergisch und irritativem KE, im Sinne einer Polymorphie. Es treten aber auch hier keine Streuphänomene auf.

Nach Frosch et al. (1996b) sind besonders folgende charakteristische Erscheinungen der CIKD zu nennen:

- Polymorphie
- Kein ausgeprägter Juckreiz

- Stärkere Ausprägung an den empfindlichen Hautpartien
- Fehlen von dyshydrosiformen Bläschen
- Fehlen von Streuphänomenen
- Langsames Rezidiv



**Darstellung 2: Irritatives Kontaktekzem am Handteller**

(Quelle: Dermatologische Klinik der Philipps-Universität Marburg, 1998)

Das Auftreten einer IKD ist an empfindlichen Körperregionen sowie Hautpartien mit zahlreichen Talgdrüsenöffnungen und Schweißdrüsenausführungsgängen begünstigt. Dies sind v.a. Gesicht, Hals und Intertrigines.

Wegen des gehäufteten Kontakts mit Detergenzien und Wasser, ist das CIKE trotzdem überwiegend an Körperstellen wie Handrücken und Extremitäten lokalisiert (Braun-Falco et al., 1995).

### **1.2.5 Diagnostische Methoden/ Epikutantest mit Natriumlaurylsulfat (NLS)**

Die Diagnose einer AIKD ist klinisch problemlos zu stellen. Hingegen ist es bei der CIKD oft schwer, eine eindeutige Diagnose zu stellen. Es handelt sich daher meist um eine Ausschlußdiagnose. Zur Diagnostik der IKD existiert kein Hauttest zur Identifizierung auslösender Stoffe wie vergleichsweise bei der allergischen KD. Es werden jedoch Modell-Irritationstests eingesetzt, wie beispielsweise der NLS-Test, welche die Empfindlichkeit bzw. Anfälligkeit der Haut gegenüber Irritantien untersuchen. Mit epikutanen NLS-Irritationstests wird versucht, individuelle Prädispositionen für die IKD bzw. Personen mit erhöhter Hautempfindlichkeit zu

identifizieren und den Mechanismus der IKD genauer zu erforschen (Frosch, 1985; Löffler et al., 1999b).

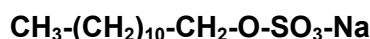
NLS ist ein Modell-Irritants, das routinemäßig zur Testung der IKD angewendet wird. Es hat sich als praktikabel und gut geeignet für die Untersuchung auf Hautempfindlichkeit, Anfälligkeit für Irritationen und zum Screening von Risikopatienten bewährt und ist mittlerweile das meist verwandte Irritants zur Untersuchung irritativer Reaktionen (Lee et al., 1995). Aufgrund guter Reproduzierbarkeit der Testergebnisse hat sich der NLS-Test zur derzeitigen Methode der Wahl etabliert und sich eindeutig gegenüber dem früher durchgeführten Alkaliresistenztest durchgesetzt (Löffler et al., 1996).

Mit Hilfe nicht-invasiver hautphysiologischer Meßmethoden, z.B. der Messung des TEWL, können Testreaktionen objektiv gemessen und bewertet werden. Allerdings existieren starke inter- und intra-individuelle Unterschiede in den Reaktionen und Meßergebnissen, so daß diese stets kritisch betrachtet und miteinander verglichen werden müssen. Positive Testreaktionen dürfen demnach klinisch nicht überbewertet werden.

Die meisten Testprotokolle verwenden eine Applikationszeit des NLS-Test von 24 - 48 Stunden. Nur vereinzelt werden Protokolle mit kürzeren Zeiten (z.B. 1 - 7 Stunden) vorgestellt (Basketter et al., 1994; York et al., 1995; Basketter et al., 1996a; Le et al., 1996; Loden et al., 1996; Basketter et al., 1997a; Basketter et al., 1997b; Robinson et al., 1998; Aramaki et al., 2001a; Aramaki et al., 2001b). Es zeigt sich hieran jedoch ein Trend, die Applikationszeit verkürzen zu können, was in vorliegender Arbeit unter standardisierten Bedingungen überprüft werden soll.

#### **1.2.5.1 Chemie des Natriumlaurylsulfat**

NLS ist ein anionisches Detergenz. Es hat ein Molekulargewicht von 288,38 g/ mol, ist aus 12 Kohlenstoffketten (C<sub>12</sub>) aufgebaut (Tupker et al., 1997) und hat folgende chemische Formel (Nikitakis et al., 1991):



NLS sollte in einer Reinheit von 99 % verwendet werden, da selbst bei einer Reinheit von 96,5 % schon deutlich geringere Reaktionen zu erwarten sind (Agner et al., 1989c). Seinen höchsten Wirkungsgrad entfaltet NLS in aqua dest. gelöst und ist hierin einer Applikation in Cremes oder Salben eindeutig überlegen (Löffler et al., 1998).

### **1.2.5.2 Klinische Veränderungen**

Die Wirkung und Penetration von NLS ist v.a. abhängig von verschiedenen exogenen und endogenen Faktoren (siehe Darstellung 1). Es finden sich dennoch einige charakteristische morphologische und pathophysiologische Veränderungen. Die häufigsten akuten Erscheinungen sind:

- Erythem
- Infiltration
- Oberflächliche Erosionen

Bei höheren Konzentrationen kommt es zu vesikulären oder sogar pustulären Reaktionen. Während der Heilungsphase treten Schuppung und Fissuren auf. Gelegentlich kann auch der sogenannte Seifen-Effekt auftreten, bestehend aus einer feinen, faltigen Oberflächenkontur verbunden mit oder gefolgt von Rauigkeit.

### **1.2.5.3 Histologische Veränderungen**

Allgemein betrachtet sind die histologischen Veränderungen bei der IKD nicht eindeutig von denen der AKD abgrenzbar.

Je nach Irritants kommt es zu Schädigungen der Epidermis bis hin zur Dermis. In den mittleren und oberen Abschnitten der Dermis findet sich eine leichte Entzündungsreaktion. Man hat festgestellt, daß vor allem die Keratinozyten eine wesentliche Rolle bei der Auslösung entzündlicher Hautveränderungen und immunologischer Reaktionen spielen (McKenzie et al., 1990).

Histologisch kann man u.a. Hyperkeratosen, Akanthosen, Parakerathosen und Nekrosen beobachten. Darüber hinaus treten Spongiose, intra- und subepidermale Vesikulae und Bullae sowie follikulär gebundene und freie Pusteln auf, die durch Ansammlung polymorphkerniger neutrophiler Granulozyten um nekrotische Gebiete herum entstehen. Desweiteren beobachtet man eine Infiltration von T-Lymphozyten (Willis et al., 1989, 1990; Brasch et al., 1992; Lachapelle, 1992; Willis et al., 1992, 1993) (siehe auch Darstellung 3).

In geringen Konzentrationen ist hauptsächlich das Stratum corneum von der NLS-Wirkung betroffen und es resultiert Hauttrockenheit und Schuppung. Bei längerer Einwirkungsdauer kann sich eine chronische Entzündung entwickeln (Frosch, 1992). Eine einmalige Applikation von NLS für 24 oder 72 Stunden verursacht eine Spongiose, intrazelluläre Vakuolenbildung, Lipidakkumulation bei leichten und mittleren

Reaktionsstärken bis hin zu Nekrosen bei starken Reaktionen (Gisslen et al., 1966; Tovell et al., 1974; Mahmoud et al., 1984; Willis et al., 1989).

NLS wirkt auf verschiedenste Hautstrukturen, die nachfolgend im Einzelnen näher beleuchtet werden.

Ein Aspekt sind hierbei die epidermalen Lipide. Eine Affinität von NLS zu Lipiden und Proteinen konnte von Patil et al. (1995) in vitro als auch in vivo bestätigt werden.

Die Schädigung der Epidermisschichten führt zu einer ultrastrukturell nachweisbaren Störung des Keratinisierungsprozesses und der hiermit eng verknüpften Lipidsynthese, -ausschleusung und des Lipidumbaus (Fartasch, 1995; Frosch et al., 1996a). Zudem bilden sich intrazelluläre Lipidtropfen, die in den Hornzellen als Vakuolen sichtbar werden (Frosch et al., 1996a).

Man vermutet eine Interaktion zwischen den Lipiden der Haut und dem NLS. In niedrigen Konzentrationen kommt es nicht zur Veränderung der Lipide, es wird jedoch deren Neusynthese beeinflusst (Tupker et al., 1997). Bei höheren Konzentrationen kommt es zur Zellschädigung, Auflösung der Lysosomenmembran, intrazellulären Lipidtröpfchen und Membranvesikeln (Imokawa et al., 1989; Willis et al., 1989). Es wird auch ein Rückgang der epidermalen Lipide beschrieben, was eine Barrierschädigung und somit eine Austrocknung der Haut zur Folge hat (Kawai et al., 1984; Imokawa et al., 1989; Froebe et al., 1990).

Mit gering konzentrierten NLS-Lösungen konnte experimentell bislang allerdings keine Wirkung auf die Lipid-Doppelmembran festgestellt werden. Man nimmt daher an, daß testübliche Konzentrationen nicht zur Lipidlösung führen, wie bei Detergenzien im Allgemeinen üblich, sondern das NLS vielmehr durch seine entzündliche Wirkung indirekt die Lipid-Neusynthese hemmt (Leveque et al., 1993; Fartasch, 1995, 1997) und zur Disorganisation der Lipid-Doppelschicht führt (Froebe et al., 1990).

Verschiedene Studien (Grubauer et al., 1987; Ottey et al., 1995; Le et al., 1996) zeigen auch, daß im Rahmen des Wiederaufbaus der Hautschutzbarriere ein Anstieg der Lipidsynthese zu verzeichnen ist. Nach Le et al. (1996) führen Irritantien sogar, im Gegensatz zu oben genannten Studien, zu einer gesteigerten Lipid-Synthese und einer Erhöhung der epidermalen Fettsäure-Bindungsproteine.

Die Erhöhung der TEWL-Werte ist möglicherweise durch den direkten Umbau der intrazellulären Lipidmembranen und/ oder durch Zerstörung der Keratinstruktur hervorgerufen (Haas et al., 1992; Nickoloff et al., 1994; Kawasaki et al., 1997).

Untersuchungen von Froebe et al. (1990) haben aufgezeigt, daß sich der Gehalt an Ceramiden im Stratum corneum nach experimenteller Irritation verändert.

Auch die epidermalen Keratinozyten sind von der NLS-Wirkung betroffen. Durch eine Reihe von in vitro und in vivo Studien (Fisher et al., 1975; Wilhelm et al., 1990b; Varani et al., 1991; Willis et al., 1992) wurde deren Aktivierung bzw. Stimulation untersucht. NLS führt zu Parakeratosen, einer Steigerung des DNA-Umsatzes und gesteigertem epidermalen Zellstoffwechsel und -umsatz (Wilhelm et al., 1990b; Willis et al., 1992). Nach Leveque et al. (1993) wird der Anstieg des TEWL nach NLS-Irritation aber nicht durch diesen beschleunigten Turn-over im Stratum corneum verursacht. Hohe Konzentrationen des NLS führen direkt zu einer zytotoxischen Nekrose mit anschließendem Zelltod der Keratinozyten (Andersen et al., 1987).

An den Langerhans-Zellen treten ebenfalls Veränderungen auf. Es kommt zu deren Vermehrung (Brand et al., 1993; Frosch et al., 1996a) und Migration in regionale Lymphknoten (Brand et al., 1992). Gelegentlich findet sich eine Verringerung der epidermalen Zelldichte mit einer begleitenden Zelldegeneration und/ oder -aktivierung (Ferguson et al., 1985; Kolde et al., 1987; Mikulowska, 1990; Willis et al., 1990). Intrazellulär können Schwellung der Mitochondrien, Zytoplasmavakuolen und Membranrisse beobachtet werden. Darüber hinaus entwickelt sich eine zunehmende Zelldesorganisation (Kolde et al., 1987).

Die Wirkung von NLS auf die Hautproteine wird in der Literatur kontrovers diskutiert. Miyazawa et al. (1984) beschreiben eine stark proteindenaturierende Wirkung des NLS. Bei in vitro Untersuchungen seiner inflammatorischen Wirkung wurde jedoch beobachtet, daß nach gründlichem Auswaschen die Schwellung rückläufig ist und sich die Hautbarriere schnell wieder regeneriert (Rhein et al., 1986). Man vermutet daher, daß es sich bei der durch NLS induzierten Reaktion um reversible Strukturveränderungen der Proteine handelt (Löffler et al., 1999b). Käme es nämlich zur Proteindenaturierung und somit einer irreversiblen Schädigung, wäre eine schnelle Regeneration nicht möglich.

Le et al. (1996) beschreiben eine Differenzierung assoziierter Proteine als Reaktion auf Irritantien.

#### **1.2.5.4 Immunologische Veränderungen**

Auch bei der IKD spielen Entzündungsmediatoren, Zytokine und Wachstumsfaktoren eine Rolle. Entgegen früheren Annahmen gibt es also nicht nur bei der AKD eine Beteiligung der Keratinozyten.

Für die IKD sind verschiedene Reaktionskaskaden beschrieben, die teilweise denen der AKD gleichen. Bislang konnte jedoch kein spezifisches Zytokin identifiziert werden, welches zur Differenzierung der beiden KD herangezogen werden kann. Interessanterweise finden sich aber alle Zytokine, die bei der AKD beteiligt sind, auch bei der IKD wieder (Kondo et al., 1994; Wilmer et al., 1994; Brand et al., 1995; Brand et al., 1996; Zepter et al., 1997).

Bei der Entstehung der IKD sind sowohl Th1-, als auch Th2-Helferzellen und deren Zytokine beteiligt (Effendy et al., 2000), wobei die Zytokinproduktion der Epidermis überwiegend in den Keratinozyten, Langerhans-Zellen und Melanozyten erfolgt (William et al., 1996).

Die unterschiedlichen Irritantien wirken immunologisch über verschiedene Mechanismen, münden letztlich aber überwiegend in eine einheitliche Endstrecke. Diverse in vitro und in vivo Studien (Lindberg et al., 1991; Willis et al., 1991; Brand et al., 1993; Kondo et al., 1994; Wilmer et al., 1994; von den Driesch et al., 1995; Brand et al., 1996; William et al., 1996; Tupker et al., 1997; Effendy et al., 2000) über die Expression von Mediatoren bei der IKD propagieren folgende Mediatoren als pathogenetisch für deren Entstehung durch NLS, wobei hier die diversen Untersuchungen durchaus zu widersprüchlichen Ergebnissen kommen: TNF- $\alpha$ , GM-CSF und IL-1 $\alpha$ .

Weitere proinflammatorische Zytokine, v.a. IL-6, IL-8, IL-1 $\beta$  sowie IL-2 (Lindberg et al., 1991; Willis et al., 1991; Brand et al., 1993; Wilmer et al., 1994; von den Driesch et al., 1995; Brand et al., 1996) und IL-10 (Kondo et al., 1994) konnten detektiert werden.

Inwieweit das im Rahmen der AKD erforschte IFN- $\gamma$  (Th1-Zytokin) sowie IL-4 (Th2-Zytokin) auch bei der IKD eine Rolle spielen, ist noch nicht ausreichend geklärt (Asada et al., 1997; Webb et al., 1998).

Die Wirkung von NLS wird begleitet von einer Leukozyten-Infiltration in Epidermis und Dermis, die meist mit einer Ödembildung und Kollagendegeneration verbunden ist. Vor allem CD4<sup>+</sup>- und CD8<sup>+</sup>-T-Lymphozyten werden angelockt (Ferguson et al., 1985; Brasch et al., 1992; Willis et al., 1993), hiervon wiederum v.a. Gedächtniszellen

(CD45RO<sup>+</sup>) (Brasch et al., 1992). Die T-Zell-Infiltration wird begleitet von CD11c<sup>+</sup>, CD1a<sup>+</sup>-Zellen und Neutrophilen, wobei B-Zellen und NK-Zellen nur eine geringe Rolle spielen (Brasch et al., 1992; Willis et al., 1993). Es konnte eine direkt chemotaktische Wirkung des NLS auf die neutrophilen Granulozyten nachgewiesen werden (Frosch et al., 1987).

Unstimulierte Keratinozyten sezernieren geringe Mengen von Zytokinen und besitzen ebenfalls ein Reservoir an Zytokinorstufen, z.B. IL-1 (IL-1 $\alpha$  und IL-1 $\beta$ ), sowie TNF- $\alpha$ , die dann abhängig von exogenen Stimuli ausgeschüttet werden.

Eine hohe Anzahl der T-Zellen trägt den Rezeptor für IL-2, der auf eine erhöhte T-Zell-Aktivierung hinweist (Brasch et al., 1992; Willis et al., 1993).

Es kommt zur Expression des Rezeptors ICAM-1 (Intrazelluläres Adhäsions-Molekül-1), eines spezifischen Liganden des  $\beta$ 2-Integrins, welches für die Up-Regulation der Rezeptoren  $\alpha$ 3,  $\alpha$ 6,  $\alpha$ v,  $\beta$ 1,  $\beta$ 4,  $\beta$ 5 verantwortlich ist (Lindberg et al., 1991; Willis et al., 1991; von den Driesch et al., 1995). Dieser Effekt wird möglicherweise sekundär durch die Freisetzung von TNF $\alpha$  induziert (Willis et al., 1991).

Darüber hinaus treten Veränderungen in der Struktur der epidermalen CD36-Rezeptoren auf (Willis et al., 1991).

Interessant im Sinne der vorliegenden Studie sind Daten zur Zytokinausschüttung nach Verletzung der Hautbarriere. Allein die mechanische Manipulationen der Epidermis führt zu einer Stimulation der Zytokinproduktion (Denda et al., 1995). Diverse Studien (Enk et al., 1992; Haas et al., 1992; Wood et al., 1992; Kondo et al., 1994; Shivji et al., 1994; Wilmer et al., 1994; Wood et al., 1994a; Wood et al., 1994b; Lisby et al., 1995; Webb et al., 1998; Effendy et al., 2000) analysierten hier Zytokinprofile und stellten nach Barrierschädigung vor allem die Expression von TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-1ra und GM-CSF fest.

Beispielsweise fand man nach wiederholter Schädigung der Haut durch Tape-stripping epidermal eine Zytokinerhöhung von TNF- $\alpha$ , IL-8, IL-10, IFN- $\gamma$ , ICAM-1, sowie dermal vermehrt IL-2, IL-4, IFN- $\gamma$ , ICAM-1 und TGF- $\beta$  (Nickoloff et al., 1994).

Nach Whittle et al. (1995) dient IL-8 als nicht-spezifischer Mediator bei Verletzungen der Haut.

Aufgrund der vielfältigen Symptomatik, den verschiedenen histologischen und immunologischen Veränderungen bietet Darstellung 3 einen zusammenfassenden Überblick:



Klinisches Bild	Histologisches Bild	Immunologische Veränderungen	Symptomatik
<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Erythem</li> <li>▪ Schuppung</li> <li>▪ Trockenheit</li> <li>▪ Rhagaden</li> <li>▪ Fissuren</li> <li>▪ Ödem</li> <li>▪ Erosionen</li> <li>▪ Pusteln</li> <li>▪ Vesikulae/ Bullae</li> <li>▪ Pusteln</li> <li>▪ Nekrosen</li> <li>▪ (Seifeneffekt, bei schwachen Irritantien)</li> <li>▪ Dyshidrosiforme Bläschen</li> <li>▪ Keine Streuphänomene</li> <li>▪ Langsame Abheilung</li> <li>▪ Polymorphes Bild bei CIKD</li> <li>▪ Monomorphes Bild bei AIKD</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Akanthose</li> <li>▪ Parakeratose</li> <li>▪ Hyperkeratose</li> <li>▪ Spongiose</li> <li>▪ Hyperproliferation</li> <li>▪ Hyperhydration</li> <li>▪ Zytolyse</li> <li>▪ Intrazelluläre Vakuolen</li> <li>▪ Lipidakkumulation</li> <li>▪ Kollagendegeneration</li> <li>▪ Intrazelluläre Lipidtröpfchen</li> <li>▪ Membranvesikel</li> <li>▪ Nekrosen</li> <li>▪ Störungen des epidermalen Lipidstoffwechsels</li> <li>▪ Störungen im epidermalen Keratinisierungsprozeß</li> <li>▪ Stimulation der Keratinozyten</li> </ul> <p><b>Langerhans Zellen:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Mitochondrienschwellung</li> <li>▪ Zytoplasmavakuolen</li> <li>▪ Zelldesorganisation</li> <li>▪ Membranrisse</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Gesteigerte Zytokinexpression: TNF<math>\alpha</math>, GM-CSF, IL-1<math>\alpha</math>, IL-1<math>\beta</math>, IL-2, IL-6, IL-8, IL-10</li> <li>▪ Induktion von ICAM-1</li> <li>▪ Zellinfiltration von CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD11c<sup>+</sup>, CD1a<sup>+</sup>, Neutrophilen</li> <li>▪ Veränderung der CD36-Rezeptoren</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Brennen</li> <li>▪ Spannen</li> <li>▪ Juckreiz</li> <li>▪ Prickeln</li> </ul>

Darstellung 3: Krankheitsbild der IKD nach Löffler et al. (2000)

### 1.2.5.5 Reaktionsmechanismus

NLS löst entzündliche Hautirritationen aus und verändert die WPB der Epidermis, was sich u.a. in einer Erhöhung des TEWL widerspiegelt (Imokawa et al., 1989; Froebe et al., 1990). Es penetriert gut durch die Hautbarriere, in die äußere Epidermis und kann in kleinen Mengen sogar in Dermis (Fullerton et al., 1994) und Rezeptorschicht identifiziert werden. Seine Wirkung ist stark abhängig von der Konzentration, Applikationsdauer und Reinheit (Serup et al., 1987; Agner et al., 1989b; Wilhelm et al., 1989; Agner et al., 1990c, 1993) und es wirkt direkt toxisch auf die Hautschutzbarriere (De Fine Olivarius et al., 1993).

Patil et al. (1995) konnten NLS noch in einer Tiefe von 5 - 6 mm unterhalb des applizierten Hautareals nachweisen. Die Konzentration nach 6 Stunden war hier niedriger als jene nach 24 Stunden. Auch in tieferliegenden Hautschichten und

Muskelgewebe wurde NLS festgestellt. Selbst sieben Tage nach einer 24-stündigen Applikation waren noch Spuren vorhanden, was eine verlängerte Barrierschädigung nahelegt.

Das klassische Reaktionsverhalten irritativer Reaktionen unterscheidet sich von allergischen Reaktionen insofern, daß die Reaktion nach Entfernung des Testpflasters rückläufig ist, wohingegen allergisch bedingte Reaktionen oft noch an Stärke und Intensität zunehmen. Ähnliche Phänomene werden aber auch nach NLS-Testungen beobachtet. Meist werden die höchsten TEWL-Werte am Tag der Testentfernung gemessen, dagegen ist manchmal noch ein Anstieg des TEWL am Folgetag zu verzeichnen (Tupker et al., 1990b). Ein Erklärung hierfür ist die experimentell beobachtete Fortsetzung der NLS-Penetration nach Abnahme der Testpflaster (Fullerton et al., 1994).

#### **1.2.5.6 Testmethoden**

Es werden zwei Arten von Irritationstests unterschieden:

##### **PROVOKATIONSTEST**

Provokationstestungen haben das Ziel, irritative Reaktionen zu induzieren, die bei allen Personen auslösbar sind, unabhängig ihrer individuellen Prädisposition für Irritantien. Provokationstests werden u.a. durchgeführt, um die Mechanismen und den Verlauf irritativer Reaktionen bzw. der IKD zu erforschen und das Irritationspotential einzelner Detergenzien zu bestimmen. Darüber hinaus kann die Sensitivität einzelner nicht-invasiver Meßmethoden untersucht und die Wirksamkeit von Feuchtigkeits- und Hautschutzcremes getestet werden.

Für Provokationstestungen empfiehlt die European Society of Contact Dermatitis (ESCD) eine 24-stündige okklusive Applikation von 2 % NLS-Lösung mittels eines 12 mm Finn Chamber® (Tupker et al., 1997).

##### **HAUTEMPFINDLICHKEITSTEST**

Hautempfindlichkeitstests haben das Ziel, die Anfälligkeit bzw. das Irritationspotential eines Individuums zu untersuchen sowie die individuellen und umweltbedingten Faktoren, die zu diesem erhöhten Risiko führen.

Gemäß den Richtlinien der ESCD soll für Hautempfindlichkeitstests NLS in Konzentrationen von 0,25 - 0,5 % NLS verwendet werden. Als Standardtest zur

Untersuchung der Hautempfindlichkeit wird empfohlen, 0,5 % NLS mittels 12 mm Finn Chamber® für 24 Stunden okklusiv zu applizieren (Tupker et al., 1997).

Für beide Testarten ist nachfolgendes PROCEDERE gebräuchlich:

NLS wird in der jeweiligen Verdünnung in aqua dest. auf die Testpflaster bzw. in die Testkammern gegeben und anschließend auf erscheinungsfreie Haut appliziert. Als Testareale kommen der Rücken, die Außenseite des Oberarmes und der volarseitige Unterarm in Betracht. Je nach angewandter Testmethode kommen Konzentrationen von 0,0625 - 20 % NLS zum Einsatz (Basketter et al., 1996b). Gemäß Tupker et al. (1990a) kann NLS in Konzentrationen von 0,1 - 5 % für maximal 48 Stunden auf die Haut gebracht werden.

Bei beiden Testarten wird einmalig ein okklusiver NLS-Test appliziert und eine akute Reaktion ausgelöst. Es entsteht eine einmalige Hautschädigung, welche eine AIKD imitiert. Nachteilig ist jedoch, daß keine chronischen Krankheitsbilder durch das Irritants induziert werden können, was der Pathogenese der CIKD mehr entspräche (Malten, 1981; Löffler et al., 1999b). Ist also eine Aussage bezüglich einer manifesten IKD gefordert, sollte eine chronisch-repetitive Irritation offener Art durchgeführt werden (Löffler et al., 1999b).

Leider unterscheiden sich viele NLS-Studien hinsichtlich ihres Testprocedere und der angewandten Techniken deutlich voneinander, was die Vergleichbarkeit der Untersuchungsergebnisse erschwert. Es existieren u.a. Variationen in Art und Größe der Testkammern, der Menge und Konzentration der Testsubstanz, der Expositionsdauer sowie der Meßzeitpunkte bzw. -zeiträume (Tupker et al., 1997).

Für die beschriebenen Testarten können verschiedene APPLIKATIONSFORMEN gewählt werden:

#### OKKLUSIONSTEST

- Einmaliger Okklusionstest
- Wiederholter Okklusionstest
- Wiederholter offener Test
- Immersionstest

Da in der vorliegenden Studie der einmalige Okklusionstest zur Anwendung kommt, wird an dieser Stelle auf die genauere Beschreibung der anderen Applikationsformen verzichtet.

#### TESTKAMMERN

Es kommen okklusive Testkammern zum Einsatz. Hierbei ist zu beachten, daß die Testpflaster der Haut direkt anliegen. Da sich aus der Größe der Teststelle verschiedene Einflüsse auf das Testergebnis ableiten, ist die Wahl der richtigen Größe der Testkammern von entsprechender Bedeutung. Die meist verwandte Testkammer ist der Finn Chamber® (Pirila, 1975). Nach Frosch et al. (1979a) ist dessen ursprüngliche Größe mit 8 mm Durchmesser und einer Kapazität von 20 µl zu klein, um positive Testreaktionen auszulösen. Zu kleine Teststellen sind u.a. wegen der geringen Menge an Testsubstanz ungeeignet, irritative Reaktionen hervorzurufen. Um ein optimales Testergebnis zu gewährleisten und die visuelle Bewertung zu erleichtern, sollten daher ausreichend große Testkammern zur Anwendung kommen (Frosch et al., 1979a). Es sind Finn Chamber® mit 12 mm und 18 mm Durchmesser, und einer Kapazität von 60 µl bzw. 300 µl, erhältlich. Diese Kammern werden jeweils mit einem Filterpapierscheibchen aus Zellulose versehen.

Allerdings sollte dabei berücksichtigt werden, daß sich bei Verwendung der 12 mm Testkammern ca. 30 - 50 % höhere Testwerte des TEWL im Vergleich zu den 8 mm Kammern ergeben (Löffler et al., 2001), da bei den 8 mm Kammern nicht-betroffene Haut durch die Meßsonde des TEWAMETER® mitgemessen wird.

#### DOSIS DER TESTSUBSTANZ

Für die Reaktion ist die Menge NLS pro mm<sup>2</sup> Haut ausschlaggebend. Gleiche Konzentrationen NLS rufen daher in größeren Mengen intensivere Reaktionen hervor (Magnusson et al., 1965; Frosch et al., 1979a).

Die Menge des penetrierten NLS wurde von Agner et al. (1990a) untersucht. Bei einer Verdünnung in aqua dest. penetrierten ca. 70 % des in den Finn Chamber® eingebrachten NLS durch die Haut. Es konnte allerdings keine Korrelation zwischen der Restmenge des NLS im Testpflaster und der Stärke der klinischen Reaktion festgestellt werden.

Diverse Studien (Novak et al., 1984; Serup et al., 1987; Wilhelm et al., 1989; Agner et al., 1990c; Nassif et al., 1994; Ollmar et al., 1994; Brasch et al., 1999) beschreiben eine Dosisabhängigkeit der NLS-Reaktionen für den einmaligen Okklusionstest.

Nach der unter Kapitel 1.2.3.3 erläuterten Formel von Schreus läßt sich folgern, daß bei kurzer Applikation höhere NLS-Konzentrationen angewendet werden können als bei längerer Applikationsdauer.

#### VERDUNSTUNG UND TEMPERATUR DER TESTSUBSTANZ

Die Verdunstung von NLS vor der Applikation vermindert möglicherweise die Entzündungsreaktion, obwohl die relative Konzentration der Testsubstanz pro mm<sup>2</sup> Haut gleichbleibend ist (Dahl et al., 1984). Die Testkammern sollten deshalb gleich nach dem Befüllen mit NLS-Lösung auf die Teststellen aufgebracht werden.

Auch die Temperatur der Testsubstanz spielt möglicherweise eine Rolle (Berardesca et al., 1995; Ohlenschlaeger et al., 1996). Man beobachtet signifikante Unterschiede der Hautreaktion bei NLS-Temperaturen von 4°, 20° und 40° C (Berardesca et al., 1995).

#### EXPOSITIONSDAUER

Bei Okklusionstestungen ist der 24- oder 48-Stunden-Test gebräuchlich. Es gibt aber auch diverse aktuelle Studien (Basketter et al., 1994; York et al., 1995; Basketter et al., 1996a; Le et al., 1996; Loden et al., 1996; Basketter et al., 1997a; Basketter et al., 1997b; Robinson et al., 1998; Aramaki et al., 2001a; Aramaki et al., 2001b), die Kurzzeittests von 1 - 7 Stunden beschreiben.

#### UNTERSUCHUNGSZEITRAUM

Die Zeit zwischen Entfernung der Testpflaster und der Testablesung ist entscheidend. Von 0 - 30 und 30 - 60 Minuten nach Entfernung der Testpflaster wurde ein signifikanter Anstieg des TEWL beobachtet. Dagegen bleibt der TEWL 60 - 180 Minuten nach Abnahme konstant (Agner et al., 1993). Die Messung sollte somit frühestens 30 Minuten (Berardesca et al., 1988b; Freeman et al., 1988) bis 60 Minuten (Agner et al., 1993) nach Abnahme der Testkammern erfolgen, da in dieser Zeit noch meßbare Reaktionen stattfinden können. Außerdem ist es gerade für die Messung des TEWL wichtig, ein stabiles Plateau zu erreichen, welches in der Regel nach 60 Minuten erreicht ist (Agner et al., 1993). Andere Autoren (Frosch et al., 1979a; Pinnagoda et al., 1989b) fordern sogar noch längere Zeitintervalle zwischen Testentfernung und Messung (Aramaki et al., 2001b).

Führt man im Gegensatz hierzu eine Testung nur mit aqua dest. durch stellt man 30 - 60 Minuten nach Testentfernung einen Anstieg des TEWL fest. Hiernach kommt es zum kontinuierlichen Abfall der Werte (Agner et al., 1993) und nach knapp 2 Stunden ist der TEWL wieder nahezu zum Basiswert zurückgekehrt (Pinnagoda et al., 1989b).

Man hat unterschiedliche Zeitverläufe nach Entfernung des NLS-Test beobachtet. Man kann somit die Reaktionen in Gruppen mit frühen, späten und sehr späten Spitzen-Meßwerten einteilen (Serup et al., 1987; Freeman et al., 1988; Agner et al., 1990c; Tupker et al., 1990b). Bei der zweiten Ablesung kann die Reaktion durchaus stärker sein als bei der ersten (Dahl et al., 1977; Bruynzeel et al., 1982; Agner et al., 1989b; Frosch et al., 1996a), was als sogenannte Crescendo Reaktion bezeichnet wird. Es kann daher oft sinnvoll sein, die Teststellen zu einem späteren Zeitpunkt nochmals nachzumessen (Löffler et al., 1997).

Ebenfalls für den visuellen Score (VS) sind solche verzögerten Reaktionen beschrieben. Mit einer Latenz von 2 Stunden bis Tagen nach NLS-Exposition können die VS signifikant höher sein als direkt nach Testabnahme (Dahl et al., 1977).

### **1.2.6 Bisherige Standardisierungsversuche des epikutanen NLS-Test**

Aufgrund der unterschiedlichen Versuchsbedingungen, u.a. verschiedener Konzentrationen, Applikationszeiten, Meßzeitpunkte, Umgebungsbedingungen, Testareale, Applikationsmethoden und Testkammern können die verschiedenen Studien und Forschungsergebnisse leider nicht objektiv miteinander verglichen werden. Die ESCD hat daher Richtlinien für die Anwendung von NLS-Tests veröffentlicht, worin versucht wird, möglichst vergleichbare, standardisierte Versuchsbedingungen herzustellen (Pinnagoda et al., 1990; Tupker et al., 1997). Diese werden in Kapitel 2.2.6 dargestellt.

### **1.2.7 Therapie und Prognose**

Die Therapie der IKD besteht in erster Linie aus einer Karenz zur auslösenden Noxe. Exogene Risikofaktoren sollten möglichst gemieden werden. Ist dies nicht möglich, sollte die Kontaktzeit mit dem Irritants bzw. die Dauer der hautbelastenden Arbeit so gering wie möglich gehalten werden.

Im floriden Stadium wird die IKD topisch mit mittel- bis hochpotenten Kortikosteroiden behandelt (Ramsing et al., 1995). Zusätzlich vermögen fettende Cremes oder Salben das Beschwerdebild zu bessern (Loden et al., 1996). Als weitere Maßnahme wird die Anwendung rückfettender Seifen und eine schonende Hautreinigung empfohlen.

Im weiteren Verlauf der Erkrankung werden entzündungshemmende Externa, z.B. niedrig- bis mittelpotente Kortikosteroide, appliziert. Es ist auch die Anwendung keratolytischer Medikamente (z.B. Salizylsäure) oder antiproliferativer Externa (z.B. Steinkohleteer, Teerderivate, Antipsoriatika) möglich. Ebenso sind harnstoffhaltige Externa gut zur adjuvanten Therapie geeignet, da sie das Wasserbindungsvermögen des Stratum corneum erhöhen (Frosch, 1992). Nach Abklingen des akuten Stadiums sind rückfettende und rehydrierende Externa zur Unterstützung der Hautregeneration notwendig (Loden et al., 1996).

Die Prognose einer KD wird wesentlich von der Compliance des Patienten hinsichtlich therapeutischer Maßnahmen sowie Schutzvorkehrungen und intensiver Pflege bestimmt. Gerade deshalb spielt die Motivation des Patienten durch den behandelnden Arzt eine wichtige Rolle im Rahmen der Behandlung einer IKD. Prognostisch entscheidend sind jedoch auch die auslösenden Faktoren und individuellen Voraussetzungen des Patienten. Die schlechteste Prognose hat eine kumulativ-subtoxische KD in Zusammenhang mit einer Atopie (Frosch et al., 1996a).

Eine irritativ vorgeschädigte Haut birgt auch die erhöhte Gefahr einer allergischen Pflopfsensibilisierung in sich. Substanzen mit kontaktallergenem Potential, die zur Therapie der KD topisch auf die betroffenen Areale aufgetragen werden, vermögen oftmals allergische Reaktionen auszulösen und das Krankheitsbild zu verschlechtern (Fitzpatrick, 1999).

### **1.2.8 Prävention**

Eine besondere Rolle spielt die detaillierte Aufklärung des Patienten über Ursachen, Auslösefaktoren, Risiken sowie Kofaktoren und eine entsprechende Verhaltenstherapie. An einer IKD erkrankte Patienten sollten folgende Punkte beachten (Wilhelm, 1996; Löffler et al., 2002):

- Feuchtes Milieu vermeiden
- Bei bekanntem Irritants den Kontakt meiden; wenn dies nicht möglich:
  - Schutzhandschuhe oder Schutzkleidung tragen
  - Kontaktzeit mit der Noxe so gering wie möglich halten
  - Ruhephasen nach Kontakt mit dem Irritants einhalten
- Gründliche, schonende Hautreinigung nach Kontakt mit der Noxe
- Rückfettende und rehydrierende Hautpflege

Die Anwendung von Hautschutzsalben ist aufgrund ihres irritativen Eigenpotentials umstritten (Frosch et al., 1993; Frosch et al., 1994), wird aber aufgrund ihrer protektiven Wirkung dennoch empfohlen (Orfanos et al., 1995). Nach Wigger-Alberti et al. (1998) sind für unterschiedliche Irritantien unterschiedliche Hautschutzpräparate wirksam und sollten daher individuell ausgewählt werden.

Wie in Kapitel 1.2.2 erläutert, tragen diverse Berufsgruppen ein erhöhtes Risiko für die Entwicklung einer IKD. Bei gefährdeten Patienten, Personen mit stark empfindlicher Haut oder Atopikern, ist daher die medizinische Beratung bezüglich der Berufswahl von großer Wichtigkeit. In solchen Fällen sollte von hautbelastenden Berufen und Berufen mit Tätigkeiten in vorwiegend feuchtem Milieu dringend abgeraten werden.

### **1.3 Hautphysiologische Untersuchungsmethoden**

Zur Messung der durch NLS ausgelösten Reaktion stehen verschiedene hautphysiologische Meßmethoden zur Verfügung. Im Klinikalltag ist die visuelle Beurteilung das wichtigste Bewertungskriterium, wohingegen bei speziellen Fragestellungen und Provokationstestungen die hautphysiologischen Meßmethoden eindeutig objektiver, sensitiver und aussagekräftiger sind, da hiermit selbst subklinische Reaktionen erfaßt werden können (Agner et al., 1990c; van Neste et al., 1992).

Die geeignetste Methode zur Untersuchung und Bewertung von Irritationstests ist ein sogenanntes klinisches Scoring. Dies beinhaltet beispielsweise:

- Messung des transepidermalen Wasserverlustes (TEWL)
- Kapazitätsmessung/ Corneometrie (Hydration)
- Colorimetrie (EI)
- Visuelles Scoring (VS)
- Doppler-Laser-Rheometrie (LD)

In dieser Studie wird die LD nicht angewendet und daher auch auf deren genauere Beschreibung verzichtet.



### 1.3.1 Messung des transepidermalen Wasserverlustes (TEWL)

Die Zerstörung der Hautbarriere durch NLS erhöht den TEWL (Imokawa et al., 1989; Froebe et al., 1990), der mittels TEWAMETER® quantifiziert werden kann.

Der TEWL, der sich aus der Aktivität der ekkrinen Schweißdrüsen und der passiven Diffusion von Wasser aus der Epidermis zusammensetzt, beträgt unter Ruhebedingungen ca. 0,5 Liter pro Tag für die gesamte Körperoberfläche, und kann durch körperliche Aktivität auf mehr als das 10-fache gesteigert werden (Nilsson, 1977a; Jessen, 1996).

Die Messung des TEWL als Zeichen der Hautirritation ist weitverbreitet (Berardesca et al., 1988a; Wilhelm et al., 1989; Agner et al., 1990c; Tupker et al., 1997). Sie stellt ein höchst sensitives und präzises Maß dar, irritative Hautreaktionen zu erfassen. Sie hat sich unter allen nicht-invasiven Meßmethoden am besten bewährt und deshalb als Methode der Wahl etabliert (Wilhelm et al., 1989; Agner et al., 1990b; Agner, 1992; Agner et al., 1993; Lee et al., 1995).

Die TEWL-Werte sind gut reproduzierbar (Agner et al., 1993; Lee et al., 1995) und haben im Allgemeinen eine lineare Dosis-Wirkungs-Beziehung (Agner et al., 1990c). Neuere Studienergebnisse (Aramaki et al., 2001a) beschreiben den TEWL als besonders geeignet bei NLS-Konzentrationen kleiner 1 % und schlagen für Konzentrationen größer oder gleich 1 % die Anwendung der LD vor, die in dieser Studie aber nicht zur Anwendung kommt.

Die höchste Korrelation zwischen dem TEWL und anderen nicht-invasiven Meßmethoden erhält man bei schwachen bis mäßigen Reaktionen; die klinische Dosis-Wirkungskurve ist hier typischerweise aber nicht linear (Tupker et al., 1997).

Das Meßprinzip des TEWAMETER® zur Bestimmung des TEWL beruht auf dem Fick'schen Diffusionsgesetz (Gobrecht, 1990) :

$\Delta m$ := Diffundierende Masse

$\Delta t$  := Zeitdifferenz

D: = Diffusionskoeffizient (konstant)

A := Grenzfläche (konstant)

$\Delta \sigma$  = Dichteänderung

$\Delta l$ : = Wegdifferenz

$$\frac{\Delta m}{\Delta t} = D * A * \frac{\Delta \sigma}{\Delta l}$$

Formel 2: Fick'sches Diffusionsgesetz

---

Der Diffusionsstrom  $\Delta m / \Delta t$  gibt an, wieviel Masse pro Zeit transportiert wird. Er ist dem Inhalt der senkrecht durchtretenden Grenzfläche  $A$  und der Dichteänderung je Weglängeneinheit ( $\Delta \sigma / \Delta l$ ) proportional. Die Variable  $D$  drückt den Diffusionskoeffizient von Wasserdampf in Luft aus (Courage+Khazaka electronic GmbH, 1998c).

Die Werte  $A$  und  $D$  können unter gleichbleibenden Bedingungen als konstant betrachtet werden. Werden durch die Standardisierung der Meßbedingungen auch die Größen Wegdifferenz  $\Delta l$  und Zeitdifferenz  $\Delta t$  definiert, so bleiben als einzige Variablen die diffundierende Masse  $\Delta m$ , im Falle des TEWL die durch die Haut tretende Menge an Wasser, und die Dichteänderung  $\Delta \sigma$ . Durch Messung von  $\Delta \sigma$  kann  $\Delta m$  bestimmt werden.

Anstelle der Dichte  $\sigma$  kann bei Gasen, gemäß dem Boyle-Mariotteschen Gesetz, auch der einfacher zu messende Partialdruck  $p_{\text{part}}$  verwendet werden. In der Fick'schen Formel wird  $\sigma$  durch  $p_{\text{part}}$  ersetzt; daraus folgt:  $\sigma = p_{\text{part}}$ . Es muß daher die Änderung des Partialdruckes  $\Delta p_{\text{part}}$  ermittelt werden.  $p_{\text{part}}$  ist das Produkt aus relativer Luftfeuchtigkeit ( $rh$ ) und dem gesättigten Dampfdruck ( $p_{\text{ges}}$ ):

$p_{\text{part.}}$  := Partialdruck

$p_{\text{ges.}}$  := Gestättigter Dampfdruck

$rh$ : = Relative Luftfeuchtigkeit

$$p_{\text{part}} = rh * p_{\text{ges}}$$

**Formel 3a: Partialdruck (allgemein)**

Nur  $p_{\text{ges}}$  ist abhängig von der Temperatur ( $T$ ). Es ergibt sich dann folgender Zusammenhang:

$T$ := Temperatur in °C

$$p_{\text{part}} = rh * p_{\text{ges}}(T)$$

**Formel 3b: Partialdruck (temperaturabhängig)**

Um  $p_{\text{part}}$  berechnen zu können, müssen daher die  $rh$  und die Temperatur gemessen werden. Dies geschieht an zwei Meßpunkten. Das von der Hautoberfläche verdunstende Wasser wird durch einen hohlen Kunststoffzylinder (Höhe = 20 mm, Durchmesser = 10 mm) geleitet. In der senkrechten Achse des Zylinders befinden sich zwei Sensorenpaare, die in einer Entfernung von 3 bzw. 9 mm von der Hautoberfläche liegen. Durch diese Sensoren wird die Temperatur ( $th_a$ ,  $th_b$ ) und die  $rh$  ( $rh_a$ ,  $rh_b$ ) gemessen. Durch die Bestimmung des Partialdruckgradienten ( $\Delta p_{\text{part}}$ ) an diesen Stellen

kann auf die durch die Haut diffundierende Wassermenge  $\Delta m$  geschlossen werden. Ein Mikroprozessor errechnet über diesen Gradienten dann den TEWL und gibt diesen in  $\text{g/m}^2\text{h}$  an (Nilsson, 1977a; Löffler, 1996; Courage+Khazaka electronic GmbH, 1998c).

### **1.3.1.1 Basis-TEWL**

Die Aussagekraft des Basis-TEWL wird in der Literatur kontrovers bewertet. Ein Zusammenhang zwischen dem Basis-TEWL und dem TEWL nach NLS-Exposition wird angenommen. Aufgrund von Fällen, in denen Patienten mit erhöhten Basis-TEWL-Werten verstärkte Reaktionen auf Detergenzien zeigen, wird seitens einiger Autoren (Murahata et al., 1986; Tupker et al., 1989; Tupker et al., 1990a; Agner, 1991a, 1991b, 1991c) eine Verbindung zwischen empfindlicher Haut und erhöhter Empfindlichkeit für Detergenzien vermutet, was wiederum von diversen anderen Autoren (Berardesca et al., 1988c, 1988b; Freeman et al., 1988; Wilhelm et al., 1990a) abgelehnt wird.

Es existieren ebenso widersprüchliche Aussagen über einem möglichen Zusammenhang zwischen der Höhe des Basis-TEWL und einem erhöhten Ekzemrisiko (van der Valk et al., 1985; Pinnagoda et al., 1989b; Agner, 1991b).

Die Beschreibungen hinsichtlich des Basis-TEWL bei Atopikern sind nicht einheitlich. Basketter et al. (1998) konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen Atopikern und Nicht-Atopikern feststellen, wohingegen Seidenari et al. (1996) hier durchaus Abweichungen registrierten.

Der Zusammenhang zwischen dem Basis-TEWL und dem Risiko für eine berufliche Dermatose wurde erstmals 1985 von Coenraads et al. (1985) dokumentiert. In einer Gruppe von 54 Metallarbeitern entwickelten vier Personen eine IKD. In allen vier Fällen war der Basis-TEWL signifikant höher als bei den anderen 50 Personen.

Im Gegensatz dazu konnte eine prospektive Studie von Smit et al. (1994) mit 74 Friseuren und 111 Krankenschwestern keinen Zusammenhang zwischen dem Basis-TEWL und dem Auftreten eines Handekzems bzw. einer Kontaktdermatitis nachweisen.

Agner et al. (1991a) zeigten bei Patienten mit hohen VS erhöhte Basis-TEWL-Werte, verglichen mit Patienten mit niedrigen VS.

### 1.3.2 Messung des Erythem-Index

Das Erythem ist eine stereotype Antwort auf verschiedenste Auslöser. Sowohl physikalische und chemische Reize, pharmakologische und toxische Faktoren, Emotionen und nervöse Reize, als auch infektionsbedingte oder nichtinfektiöse Entzündungen können zum Erythem führen. Das Erythem entspricht einer entzündlichen Rötung der Haut, die einer durch Vasodilatation ausgelösten lokalen Hyperämie entspricht. Diese führt zur Verlangsamung der Blutflußgeschwindigkeit und somit einer lokal höheren Dichte an Entzündungszellen.

Das nach NLS-Testung entstehende Erythem wird durch Messung mit dem MEXAMETER® quantifiziert. Das MEXAMETER® mißt mittels Absorption die Hautdurchblutung und somit die Stärke des Erythems. Dies geschieht durch Messung zweier verschiedener Wellenlängen über eine Sonde (Meßbereich: Durchmesser 5 mm). Die eine Wellenlänge ist abgestimmt auf die Spitze des Absorptionsspektrums von Hämoglobin, die andere ist ausgerichtet zur Vermeidung störend einflußreicher Farben (z.B. Bilirubin) (Courage+Khazaka electronic GmbH, 1998b).

Die Erythem-Messung mit dem MEXAMETER® beruht auf folgendem Prinzip (Courage+Khazaka electronic GmbH, 1998b):

El:= Erythem-Index

$$EI = \frac{500}{\log 5} \left( \log \frac{\text{Rotreflektion}}{\text{Grünreflektion}} + \log 5 \right)$$

**Formel 4: Berechnung des Erythem-Index**

Die Messung des EI ist wegen seiner einfachen Anwendung eine hilfreiche, ergänzende Methode, entzündliche Reaktionen zu objektivieren (Wilhelm et al., 1989). Die Sensitivität ist äußerst gering (Agner et al., 1990c), korreliert aber im Allgemeinen gut mit den VS (Serup et al., 1990).

### 1.3.3 Messung der Hydration

Die Hydration (HY), der Feuchtigkeitsgehalt der Haut, ist normalerweise relativ gering (Blank, 1952). Er wird überwiegend im Stratum corneum der Epidermis reguliert und ist von

- exogenen Faktoren (u.a. Temperatur, Luftfeuchtigkeit, Kosmetika, topisch applizierten Pharmaka) und
- endogenen Faktoren (u.a. Hautatmung, Wasserbindungsvermögen, WPB) abhängig.

Die Messung der HY, die sogenannte Corneometrie, ist ein diagnostisches Kriterium des Schutzmantels der Haut. Veränderungen im Stratum corneum können mittels des CORNEOMETER® erfaßt werden.

Je nach Stärke der ausgelösten Reaktion kann die HY zu Reaktionsbeginn vorerst ansteigen, bevor es dann zu einer Abnahme des Wassergehaltes und zu einer Austrocknung der Epidermis kommt (Wilhelm et al., 1994).

Das Prinzip der Hydrationsmessung mit dem CORNEOMETER® beruht auf einer Kapazitätsmessung der Haut. Die Meßsonde (Fläche  $A = 49 \text{ mm}^2$ ) ist ein Meßkondensator, dessen Kapazität sich je nach Wasseranteil im Stratum corneum erhöht oder erniedrigt. Durch die unterschiedlichen Anteile von Wasser und anderen Gewebsanteilen im Stratum corneum und durch ihre unterschiedlichen Dielektrizitätszahlen ergibt sich eine Mischdielektrizitätszahl, die proportional zur Kapazität des Meßkondensators ist. Das bedeutet, die Kapazität des Meßkondensators ist dann besonders hoch, wenn der Wasseranteil besonders hoch ist.

Die Hydrationsmessung basiert auf folgendem physikalischen Prinzip (Wilhelm et al., 1991; Hammer et al., 1992; Courage+Khazaka electronic GmbH, 1998a):

Dielektrizitätszahl Wasser:  $\epsilon_r \text{ Wasser} = 81$

Dielektrizitätszahl anderer Gewebeanteile:  $\epsilon_r \text{ andere Gewebeteile} < 7$

Elektrische Feldkonstante:  $\epsilon_0 = 8,8542 \times 10^{-12} \text{ C/ (V * m)}$

C: = Kapazität des Meßkondensators

A: = Fläche des Meßkondensators (konstant)

D: = Abstand des Kondensators zur Hautoberfläche (konstant)

$\epsilon_r$ : = Dielektrizitätszahl, hier als Mischwert zwischen  $\epsilon_r \text{ Wasser}$  und  $\epsilon_r \text{ andere Gewebeteile}$

$$C = \epsilon_0 * \epsilon_r * (A / d)$$

**Formel 5: Kapazitätsmessung über dem Meßkondensator**

Zusammenfassend ergibt also ein hoher Anteil an Wasser im Stratum corneum eine hohe  $\epsilon_r$ , da  $\epsilon_r$  Wasser wesentlich größer ist als  $\epsilon_r$  andere Gewebeteile. D.h. eine hohe Kapazität, ist ein Indiz für einen hohen Wasseranteil im Stratum corneum ist.

## **1.4 Visuelle Bewertung der Testreaktionen**

Die ESCD empfiehlt verschiedene Scores zur Bewertung irritativer Testreaktionen, die in den Richtlinien für NLS-Tests klassifiziert sind (Tupker et al., 1997).

Die visuelle Beurteilung stellt allerdings ein subjektives Kriterium mit geringer Reproduzierbarkeit dar, das somit wenig sensitiv und stark vom jeweiligen Untersucher und der Beleuchtung abhängig ist.

## **1.5 Einflußgrößen auf den TEWL und dessen Messungen**

Entsprechend der teils bereits erörterten Umgebungsbedingungen und den individuellen Voraussetzungen der Patienten existieren diverse Einflußfaktoren auf die Testergebnisse, die im Anschluß im Detail erläutert werden.

### **1.5.1 Individuelle Faktoren**

#### **1.5.1.1 Alter**

Die höchsten TEWL-Werte finden sich bei Kindern. Die Werte sind dann rückläufig und bleiben im Erwachsenenalter konstant (Leveque et al., 1984). Nach dem 60. Lebensjahr sind die Reaktionen am gesamten Körper schwächer ausgeprägt und bleiben länger bestehen als bei jüngeren Personen. Dies deutet darauf hin, daß der Heilungsprozeß bei älteren Personen verlangsamt ist (Cua et al., 1990a; Elsner et al., 1990). Diesen Rückgang der Reaktionsstärke kann man am ganzen Körper in gleicher Weise beobachten (Cua et al., 1990b). Dieser Sachverhalt läßt sich gut durch die physikalischen Veränderungen der Haut bezüglich Dicke, Elastizität und Permeabilität ab dem 60. Lebensjahr erklären (Leveque et al., 1984; Cua et al., 1990a; Agner, 1991a).

Es existieren somit in der Altersgruppe zwischen 18 und 60 Jahren keine signifikanten Reaktionsunterschiede (Agner, 1991a; Löffler et al., 1996).

### 1.5.1.2 Geschlecht

Obwohl epidemiologische Daten von Meding et al. (1990) bei Frauen eine erhöhte Anfälligkeit für Kontaktdermatiden zeigen, konnte experimentell keine Geschlechtsabhängigkeit bezüglich der Hautempfindlichkeit für Irritantien nachgewiesen werden (Björnberg, 1975; van der Valk et al., 1984; Lammintausta et al., 1987; Goh et al., 1988; Tupker et al., 1989; Agner, 1991a; Löffler et al., 1996).

Es wird vermutet, daß bei Frauen eine intensivere Exposition mit irritativen Substanzen und die vermehrte Nässeexposition für das häufigere Auftreten verantwortlich ist (Björnberg, 1975; Nilsson et al., 1986; Frosch et al., 1996a).

### 1.5.1.3 Anatomische Region

Der TEWL ist stark abhängig von der anatomischen Region. Die Unterschiede der verschiedenen Körperregionen resultieren aus dem verschiedenartigen Aufbau der Haut, v.a. aber der Epidermis und des Stratum corneum sowie der Verteilung der Schweißdrüsen (Pinnagoda et al., 1990).

Es sind auch unterschiedliche Meßergebnisse an der selben Körperregion beschrieben (Van der Valk et al., 1989), was wiederum von Panisset et al. (1992) nicht bestätigt werden konnte. Seitendifferenzen treten in diversen Studien (Van der Valk et al., 1989; Agner et al., 1990b; Pinnagoda et al., 1990) auf, erreichen aber durchweg kein Signifikanzniveau.

Allgemein ist die Haut an Gesicht, Hals, Axillar- und Inguinalregion sowie dem Genitale empfindlicher für irritative Reaktionen als die übrigen Körperregionen (Braun-Falco et al., 1995). Die Basis-TEWL-Werte nehmen am Körper in folgender Reihenfolge ab: Handfläche> Fußsohle> Stirn> Handaußenfläche und Hand> Unterarm> Oberarm= Hals= Brust= Bauch= Rücken.

Das niedrigste Irritationspotential liegt dementsprechend an den Handflächen vor (Cua et al., 1990a). Insgesamt sind die intra-individuellen Unterschiede jedoch, verglichen mit den inter-individuellen, äußerst gering (Pinnagoda et al., 1990).

Beispielhaft die Basis-TEWL-Werte verschiedener Körperstellen:

- Handfläche: TEWL 48,0 g/m<sup>2</sup>h (Nilsson, 1977b)
- Stirn: 16,5 g/m<sup>2</sup>h (Nilsson, 1977b)
- Oberer Rücken:
  - 6,0 g/m<sup>2</sup>h (Nilsson, 1977b)

- 5,5 +/- 2,61 g/m<sup>2</sup>h bei Männern und 2,9 +/- 1,62 g/m<sup>2</sup>h bei Frauen (Goh et al., 1988)
- 3,22 +/- 0,65 g/m<sup>2</sup>h bei Männern und 3,35 +/- 0,69 g/m<sup>2</sup>h bei Frauen (Lammintausta et al., 1987)
- Unterer Rücken 5,0 g/m<sup>2</sup>h (Nilsson, 1977b)

#### **1.5.1.4 Rasse**

Die Einflüsse der Rasse auf die Untersuchungsergebnisse sind vielfach untersucht und kontrovers diskutiert.

Im Allgemeinen reagieren stark pigmentierte Rassen schwächer auf chemische Irritantien als Weiße und sind weniger empfindlich für irritative Reaktionen (Berardesca et al., 1988c, 1988b; Reed et al., 1995). Im Gegensatz hierzu fand man aber bei Schwarzen und Hispanics tendenziell, statistisch jedoch nicht signifikante TEWL-Erhöhungen bei NLS-Tests im Vergleich zu Weißen (Berardesca et al., 1988c, 1988b). Die hinsichtlich des Reaktionsverhaltens beschriebenen Unterschiede sind durchweg äußerst gering ausgeprägt (Björnberg et al., 1979; Agner, 1991a; Reed et al., 1995), so daß Einfluß der Rasse für die NLS-Reaktion von untergeordneter Bedeutung ist.

#### **1.5.1.5 Hauttyp**

Für Hellhäutige und Personen mit Hauttyp I konnten erhöhte Empfindlichkeiten gegenüber NLS nachgewiesen werden (Lammintausta et al., 1988; Agner, 1991a, 1992; Braun-Falco et al., 1995).

#### **1.5.1.6 Genetischer Einfluß**

Die Hautempfindlichkeit ist zu einem nicht geringen Teil durch genetische Disposition determiniert. Bei NLS-Testungen von ein- und zweieiigen Zwillingen stellte sich nur bei eineiigen Zwillingen eine hohe Konkordanz hinsichtlich der Anfälligkeit für irritative Reaktionen dar (Holst et al., 1975).

#### **1.5.1.7 Atopie**

Patienten mit atopischer Dermatitis reagierten intensiver auf NLS und zeigen höhere TEWL-Werte sowohl vor als auch nach Exposition (van der Valk et al., 1985; Tupker et al., 1990a; Agner, 1991c, 1992). Sie weisen somit ein erhöhtes Reaktionspotential



gegenüber Irritantien auf (Agner, 1991c; Cowley et al., 1992). Nach Untersuchungen von Löffler et al. (1999a) trifft dies aber nur für Atopiker mit akuter Dermatitis zu.

Aufgrund ihrer trockenen, rissigen Haut tragen Atopiker generell ein erhöhtes Erkrankungsrisiko, da ihre Haut verstärkt permeabel für Irritantien ist. Zusammenfassend gilt die Atopie deshalb als wesentlicher Dispositionsfaktor für die Entwicklung einer IKD (Frosch et al., 1996a).

#### **1.5.1.8 Hauttrockenheit**

Verschiedene Autoren (Grice et al., 1967; Frost et al., 1968; Lavrijsen et al., 1993) beschreiben stark erhöhte TEWL-Werte und eine verstärkte Empfindlichkeit gegenüber Irritantien bei Patienten mit trockener Haut im Vergleich zu Hautgesunden. Dem gegenüber stehen Daten von Lammintausta et al. (1988), die hier keinen Zusammenhang erkennen konnten.

Aufgrund histologischer und ätiopathogenetischer Kenntnisse der IKD kann in der Praxis jedoch eine erhöhte Anfälligkeit trockener Haut gegenüber Irritantien angenommen werden.

#### **1.5.1.9 Hyperirritabilität/ Hauterkrankungen**

Der NLS-Test ist sehr gut geeignet, hyperirritable Haut zu identifizieren (Agner, 1991b). Für irritative Reaktionen sind Phänomene ähnlich einem „Angry Back“, einem hyperreaktiven Geschehen auf eine positive allergische Testreaktion mit nachfolgender Hyperreaktivität des gesamten Testareales, beschrieben. Diverse Studien (Björnberg, 1968; Shahidullah et al., 1969; Gloor et al., 1985; Blichmann et al., 1987; Agner, 1991b, 1992) propagieren eine Erhöhung der Hautempfindlichkeit an nicht betroffenen Körperstellen durch verschiedene Arten von Dermatiden, z.B. akuten oder chronischen Ekzemen, unabhängig von deren Lokalisation am Körper.

Individuelle Faktoren, die beispielsweise eine Hyperreaktivität auszulösen vermögen sind wie folgt:

- Manifeste Dermatitis an anderen Körperstellen (Björnberg, 1968; Tupker et al., 1995a)
- Hauttrockenheit (Tupker et al., 1990a)
- Anamnese mit atopischer Dermatitis (Tupker et al., 1990a),
- Verletzung der Hautbarriere

- Kürzlicher Irritantienkontakt in der Anamnese (Freeman et al., 1988; Lee et al., 1994).

## **1.5.2 Klimatische Faktoren**

In Anlehnung an die physikalischen Bedingungen für die Messung des TEWL (Kapitel 1.3.1) sind folgende Faktoren zu beachten.

### **1.5.2.1 Luftzug**

Luftzug ist bei den Messungen des TEWL möglichst auszuschließen (Agner, 1992). Unregelmäßige Meßergebnisse hierdurch finden sich z.B. durch:

- Öffnen von, bzw. offene Türen und Fenster
- Herumlaufen von Personen
- Bewegungen jeglicher Art
- Atmung in Nähe der Meßinstrumente

Um Luftturbulenzen zu vermeiden wird daher die Verwendung einer oben offenen Meßkammer über dem gesamten Testareal empfohlen (Pinnagoda et al., 1989a; Pinnagoda et al., 1990).

### **1.5.2.2 Relative Luftfeuchtigkeit (rh)**

Die rh hat entscheidenden Einfluß auf die TEWL-Meßwerte. Im Testraum sollte eine konstante rh von ca. 40 % angestrebt werden (Pinnagoda et al., 1990). Die Beeinflussung der gemessenen TEWL-Werte durch die rh basiert auf einem nicht-linearen Zusammenhang. Bei einer rh größer 2 % absorbiert das Stratum corneum, aufgrund seiner hohen Affinität und Aufnahmekapazität, Wasser (Blank, 1952). Mit Zunahme seines Wassergehaltes nimmt die Permeabilität des Stratum corneum zu und führt zum Anstieg des TEWL (Bettley et al., 1967; Spruit et al., 1969; Grice et al., 1972; Grice, 1980). Erreicht die rh 30 - 50 % sinkt der TEWL. Durch die ansteigende rh steigt der umgebende Wasserdruck, der Druckunterschied zwischen Umgebung und Haut wird kleiner, die passive Diffusion verringert sich und es kommt Rückgang der TEWL-Werte. So entspricht der TEWL bei 70 % rh etwa dem bei 2 - 3 % rh (Grice et al., 1972; Grice, 1980).

### **1.5.2.3 Temperatur**

Auch die Hauttemperatur ist ein wichtiger Einflußparameter (Grice et al., 1971; Nilsson, 1977b). Sie wird von rh und Umgebungstemperatur bestimmt. Ab einer Hauttemperatur von 28 - 30°C steigt der TEWL logarithmisch an (Grice et al., 1971; Thiele et al., 1972). Herrscht eine Umgebungstemperatur von 20 - 22°C, so liegt die Hauttemperatur bei 28 - 32 °C. Da bei diesen Temperaturen die Schweißdrüsen in Ruhe inaktiv sind, wird der TEWL nur unwesentlich beeinflusst (Nilsson, 1977b; van der Valk et al., 1984; Coenraads et al., 1986; Van der Valk et al., 1989). Um diese konstanten Temperaturen auf der Haut zu erreichen, ist unbedingt eine Ruhezeit vor den Messungen erforderlich. Eine detaillierte Beschreibung dieser Zusammenhänge findet sich in Kapitel 1.3.1.

Desweiteren ist es notwendig, die Umgebungstemperatur konstant zu halten. Eine Raumtemperatur von 20 - 22 °C für die Messungen gilt als ideal (Pinnagoda et al., 1990).

### **1.5.2.4 Schweißdrüsenaktivität**

Über den Körper verteilen sich 2 - 4 Millionen Schweißdrüsen (Kuno, 1965). Der TEWL ist stark abhängig von deren Aktivität. In Ruhe sind diese erst ab einer Umgebungstemperatur von 28 - 30°C aktiv (Pinnagoda et al., 1990). Daher hat sich vor den Messungen eine Ruhezeit im Testraum mit unbedeckten Testarealen bei konstanter Umgebungstemperatur von 20 - 22°C bewährt (Pinnagoda et al., 1989c). Diese sollte im Sommer, aufgrund der hier verstärkten Aktivität der Schweißdrüsen, gegebenenfalls angepaßt werden (Pinnagoda et al., 1990).

### **1.5.2.5 Jahreszeit**

Im Winter treten wesentlich häufiger IKD auf. Man fand bei gesunden Probanden im Winter signifikant höhere Empfindlichkeiten für NLS als in den Sommermonaten. Die Jahreszeit hat somit entscheidenden Einfluß auf irritative Hauterkrankungen (Frosch et al., 1979b; Agner et al., 1989a; Tupker et al., 1995b; Basketter et al., 1996b; Uter et al., 1998), wobei diese bei Atopikern stärker ausgeprägt ist als bei Gesunden (Tupker et al., 1995b).

Bezüglich des Basis-TEWL waren jedoch keine relevanten Unterschiede zwischen Sommer und Winter zu verzeichnen (Agner et al., 1989a).

Die erhöhte Reaktionsbereitschaft im Winter ist sowohl bei Gesunden als auch bei Atopikern auf die niedrigere HY und geschwächte Barrierefunktion des Stratum corneum zurückzuführen (Agner et al., 1989a; Tupker et al., 1995b). Im Winter ist die geringere rh, u.a. bedingt durch trockene Heizungsluft, dafür verantwortlich, daß das Stratum corneum austrocknet und sich Fissuren und Schuppung bilden (Blank, 1952). Der geringe Umgebungswasserdruck hemmt die Fähigkeit des Stratum corneum Wasser zu speichern. Hieraus resultiert eine Abnahme der HY und folglich auch der Flexibilität der Hornschicht, was zur Zunahme der Hautempfindlichkeit führt.

## **1.6 Ableitung der Fragestellung**

Der NLS-Test wird derzeit unterschiedlich angewendet bzw. variiert, so daß Vergleiche und Interpretationen einzelner Ergebnisse oft nicht oder nur sehr vage möglich sind. Um Testergebnisse vergleichbar und objektiv zu machen ist es nötig, den NLS-Test weiter zu standardisieren und für den Klinikalltag praktikabler zu machen. Bisher existieren keine Studienergebnisse, die eine klinische Umsetzbarkeit zur Verkürzung des NLS-Tests darlegen bzw. eine klares Protokoll einer verkürzten Testdauer aufzeigen. Die vorliegende Arbeit untersucht bei hautgesunden Personen die irritative Reaktion auf verschiedene Testvarianten.

Zur Untersuchung standardisierter Testbedingungen werden folgende Testvariationen vorgenommen:

### **APPLIKATIONSDAUER**

Ein Aspekt der vorliegenden Untersuchung ist die Verringerung der nötigen Applikationsdauer. Es wird versucht, die Testdauer von bisher üblichen 24 Stunden auf 4 Stunden zu reduzieren, trotzdem aber Reaktionen zu provozieren, die sowohl visuell, wie auch mittels hautphysiologischer Meßverfahren eindeutig zu erfassen sind.

### **KONZENTRATION**

Es werden die Konzentrationen des NLS variiert, um durch möglichst niedrige Konzentrationen die Belastung für den Patienten so gering wie möglich zu halten, aber dennoch aussagekräftige Reaktionen zu erzeugen.

### **VORBEHANDLUNG DER TESTSTELLEN VOR TESTAPPLIKATION**

Mit Hilfe von Vorbehandlungen (VB) der Teststellen vor Applikation des NLS-Test soll untersucht werden, ob dadurch objektivere und zuverlässigere Aussagen hinsichtlich einer irritativen Reaktion möglich sind.

Die einzelnen Variablen der vorliegenden Studie können in verschiedene Kategorien unterteilt werden:

- Unterschiedliche APPLIKATIONSDAUER
  - 4 Stunden
  - 24 Stunden
- Unterschiedliche MEßZEITPUNKTE
  - 4 Stunden

- 24 Stunden
- 72 Stunden
  
- Epikutaner NLS-Test mit verschiedenen KONZENTRATIONEN
  - 0,5 % NLS in aqua dest.
  - 1 % NLS in aqua dest.
  - 2 % NLS in aqua dest.
  - 5 % NLS in aqua dest.
  
- Verschiedenartige VORBEHANDLUNGEN (VB)
  - Keine VB (VB 1)
  - Prick Test mit Lanzette (VB 2)
  - Prick Test mit Teststempel (VB 3)
  - Scratch Test mit Lanzette (VB 4)
  - Inzision mit standardisiertem Inzisionsgerät (VB 5)

Zur Beurteilung der Testergebnisse werden folgende Auswertungen vorgenommen:

- Messung des TEWL vor und nach Epikutantestung
- Visuelle Bewertung der Teststellen
- Messung des Erythems vor und nach Testung
- Messung der HY vor und nach Testung

In Würdigung der in der Literatur bisher beschriebenen Kurzzeit-Patch-Tests für die IKD (Basketter et al., 1994; York et al., 1995; Basketter et al., 1996a; Le et al., 1996; Loden et al., 1996; Basketter et al., 1997a; Basketter et al., 1997b; Robinson et al., 1998; Aramaki et al., 2001a; Aramaki et al., 2001b) wird in der vorliegenden Arbeit versucht, den NLS-Test standardisiert auf 4 Stunden zu verkürzen. Bisher wurde eine solche Testung v.a. alternativ zum sogenannten „Draize rabbit skin test“ beschrieben, und überwiegend zur Testung des Irritationspotentials verschiedener Irritantien angewandt. Die vorliegende Studie legt ihren Schwerpunkt auf die Identifizierung von Personen mit erhöhter Hautempfindlichkeit für Irritantien und somit einer erhöhten Gefahr der Entwicklung einer IKD.

## 1.7 Hypothesen

Folgende Hypothesen sollen mit der in Kapitel 2 beschriebenen Methodik geprüft werden:

**H1<sub>0</sub>:** Die Patienten mit erhöhten Basis-TEWL-Werten zeigen auch erhöhte TEWL-Werte nach NLS-Testung.

**H2<sub>0</sub>:** Ohne VB der Teststellen (VB 1) ist die Reaktion am geringsten ausgeprägt. Die zuverlässigsten Testergebnisse liefert die standardisierte VB 5, deutlich abgrenzbar vom bisherigen „Goldstandard“ (VB 1).

**H3<sub>0</sub>:** Der 4-Stunden-Test liefert eindeutige Testergebnisse und ist zur Provokation einer klinisch relevanten irritativen Reaktion ausreichend, d.h. eine Verkürzung der Testdauer auf 4 Stunden ist möglich.

**H4<sub>0</sub>:** Die Notwendigkeit von Nachmessungen des TEWL ist nicht gegeben. Für ein genaueres oder objektiveres Testergebnis sind keine weiteren Messungen nach 24 und/ oder 72 Stunden notwendig.

**H5<sub>0</sub>:** Die Testergebnisse des TEWL korrelieren mit denen des VS.

**H6<sub>0</sub>:** Die Werte des TEWL und der HY korrelieren nicht miteinander.

**H7<sub>0</sub>:** Es liegt ein Zusammenhang zwischen der Stärke des Erythems und dem VS vor.

## 2 Material und Methode

Die klinischen Untersuchungen der vorliegenden Arbeit fanden im Zeitraum von November 1999 bis März 2001 in der Abteilung für Hautphysiologie der Dermatologischen Klinik der Philipps-Universität Marburg statt. Für diese Studie wurde am 15.11.1999 eine Zustimmung der Kommission für Ethik in der ärztlichen Forschung, Marburg, erteilt. Gemäß den Empfehlungen der Kommission wurden die Probanden schriftlich und mündlich über den Studienverlauf und potentielle Risiken aufgeklärt und erklärten sich schriftlich zur Teilnahme bereit. Alle Daten wurden anonym erhoben und ausgewertet.

### 2.1 Material

#### 2.1.1 Probanden

In die Studie sind 36 Probanden einbezogen. Es handelt sich um hautgesunde Personen, die vorwiegend aus dem stationären Patientengut der Dermatologischen Klinik der Philipps-Universität Marburg rekrutiert sind, sowie freiwillige Probanden. Um an der Studie teilnehmen zu können, muß die Anamnese der Probanden als hautgesund bewertet und folgende Ein- bzw. Ausschußkriterien beachtet werden:

Einschlußkriterien	Ausschlußkriterien
<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Alter zwischen 20 und 60 Jahren</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Effloreszenzen im Testareal</li> <li>▪ Akuter Schub einer atopischen Dermatitis</li> <li>▪ Topische Behandlung des Testareals</li> <li>▪ Systemische Antihistaminikatherapie</li> <li>▪ Systemische Kortikoidtherapie</li> <li>▪ Schwangerschaft</li> </ul>

Darstellung 4: Ein- und Ausschußkriterien der Studie

Auf eine Blockbildung hinsichtlich Geschlecht (Björnberg, 1975; Lammintausta et al., 1987; Tupker et al., 1989) und Alter wird verzichtet, da innerhalb des in der Studie verwandten Probandenkollektivs keine Unterschiede in der Reaktion zu erwarten sind (Tupker et al., 1997) (siehe Kapitel 1.5.1.1, 1.5.1.2).



### 2.1.2 Testareal

Aus folgenden Gründen wird die obere Rückenpartie als Testareal für die Applikation des NLS-Tests in der vorliegenden Studie gewählt:

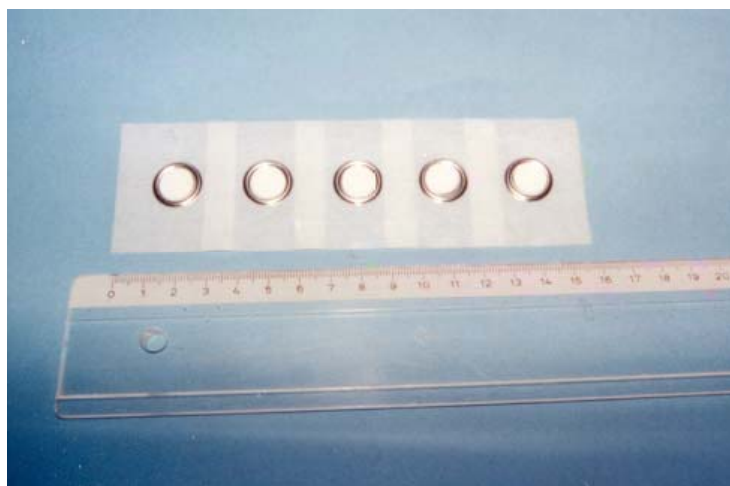
- Ausreichend große Testfläche für 20 Testkammern
- Gute Auflagefläche für das standardisierte Inzisionsgerät
- Geringe äußere Einflüsse auf das Testareal

### 2.1.3 Testsubstanzen

Als Testsubstanz wird NLS der Fa. Caelo, Hilden verwendet. Appliziert werden in aqua dest. verdünnte Konzentrationen von 0,5 %, 1 %, 2 % und 5 % Gewicht/ Volumen (g/v). Der Reinheitsgrad der Lösung beträgt vor Verdünnung 96,7 %. Weitere Bestandteile sind v.a. unveresterte Alkohole (0,58 %); Ch.-B. 40221.004E8.

### 2.1.4 Testkammern

Zur Applikation des Epikutantests werden die Testpflaster Finn Chamber on Scanpor<sup>®</sup>, Durchmesser 12 mm, der Fa. Epitest Ltd. Oy, Tuusula, Finnland, verwendet. Die Finn Chamber<sup>®</sup> werden vor dem Auftragen der Testlösung mit einem entsprechenden Filterpapierscheibchen (11 mm) bestückt. Hiernach werden in jedes Finn Chamber<sup>®</sup> jeweils 60 µl der NLS-Lösung in den entsprechenden Konzentrationen pipettiert. Die Finn Chamber<sup>®</sup> werden im Abstand von ca. 3 cm auf dem Testareal aufgebracht (siehe Darstellung 5).



Darstellung 5: Testpflaster Finn-Chamber on Scanpor<sup>®</sup>

## 2.1.5 Testgeräte

### 2.1.5.1 Lanzette

Für den Prick- und Scratch-Test werden Lanzetten der Fa. ALK, Hørsholm, Dänemark, verwendet. Diese Lanzetten werden routinemäßig für Prick- und Scratch-Tests in der Allergologie eingesetzt (siehe Darstellung 6).

### 2.1.5.2 Teststempel

Die Teststempel (Darstellung 6) wurden bei der Fa. Chiron Behring GmbH & Co., Marburg, Germany, bezogen. Diese Kunststoffstempel entsprechen den üblichen Tuberkulin-Teststempeln, in vorliegendem Fall ohne Antigen-Bestückung.

Technische Daten des Teststempels:

- Basis quadratisch:  $S = 0,7 \text{ mm}$
- Länge der Spitzen:  $2,2 \text{ mm}$
- Abstand der Spitzen:  $5 \text{ mm}$

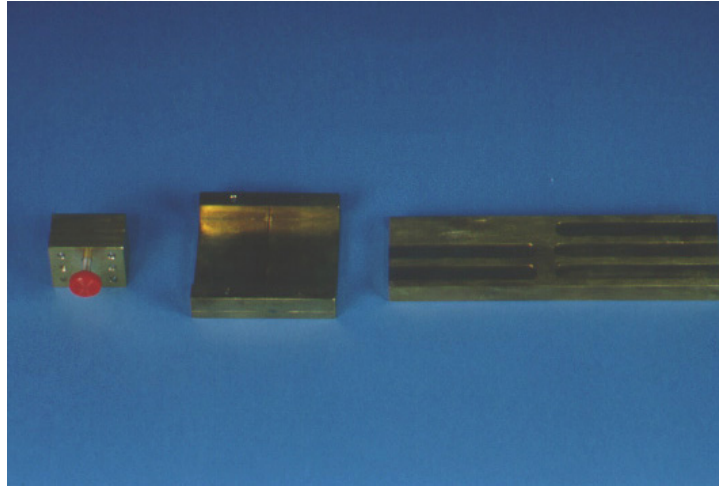


Darstellung 6: Testgeräte: Lanzette und Teststempel (v. l. n. r.)

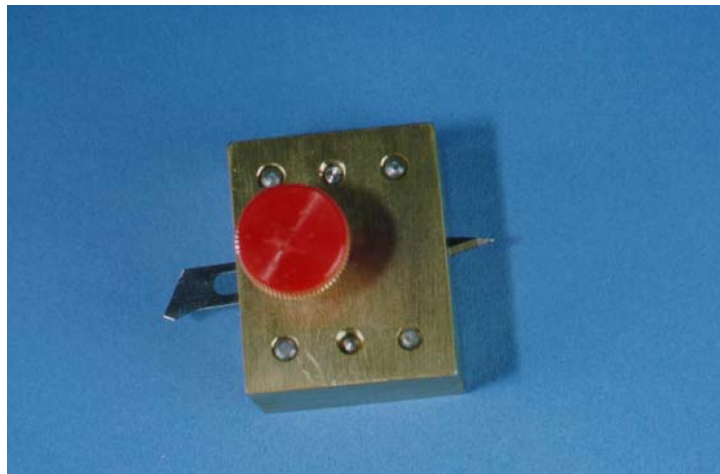
### 2.1.5.3 Standardisiertes Inzisionsgerät

Zur Standardisierung des NLS-Test wurde ein Gerät entwickelt, mit dem eine exakt definierte Inzision der Haut erfolgt. Tiefe und Länge der Inzision werden vom Gerät vorgegeben. Das Inzisionsgerät (siehe Darstellungen 7a-c) besteht aus Justierplatte, Auflageplatte und Skalpellhalter. In den Skalpellhalter werden Skalpellklingen, Fig. 11 der Fa. Safety Razor Co. Ltd., Japan, eingespannt. Für die Studie wurde eine Schnitttiefe von  $0,2 \text{ mm}$  gewählt, die durch die Justierplatte jeweils exakt eingestellt wird. Dies liegt im Bereich der oberen Rückenpartie inmitten des Korium (Whitton et al., 1973). Unter Zuhilfenahme der Auflageplatte wird das Gerät auf die Hautoberfläche gelegt und Inzisionen mit einer Schnittlänge von jeweils  $10 \text{ mm}$  gezogen. Durch das

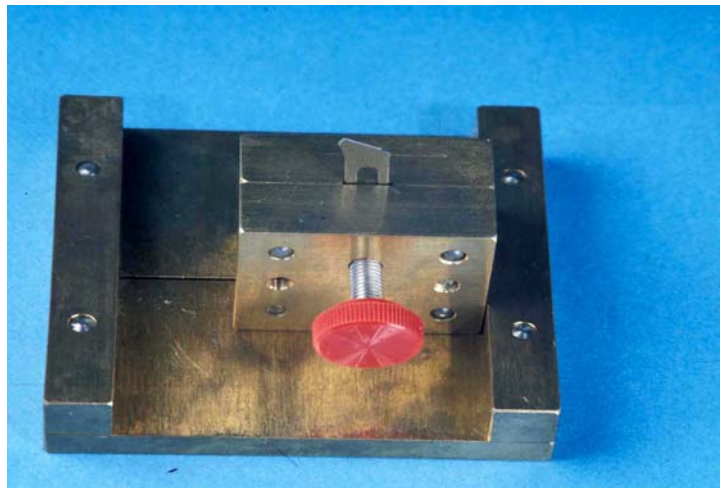
Eigengewicht von Auflageplatte und Skalpellhalter und entsprechenden Auflagedruck wird die voreingestellte Schnittiefe zuverlässig eingehalten. Die Schärfe des Skalpells und exakte Führung gewährleisten, daß es sich um eine Inzision und nicht um eine Skarifikation der Haut, wie bei VB 4, handelt.



**Darstellung 7a: Inzisionsgerät: Skalpellhalter, Auflage-, Justierplatte (v.l.n.r)**



**Darstellung 7b: Inzisionsgerät: Skalpellhalterung mit Skalpell**



**Darstellung 7c: Standardisiertes Inzisionsgerät**

Eine Detailzeichnung des Inzisionsgerätes befindet sich im Anhang.

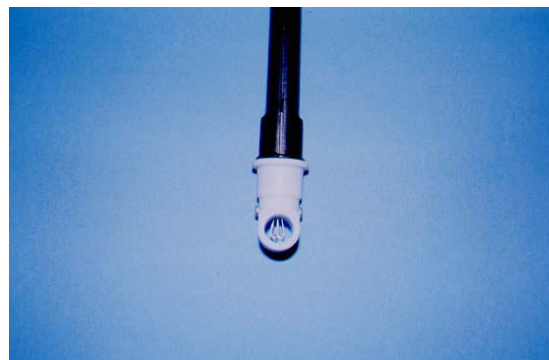
### 2.1.6 Meßgeräte

Für die Messungen werden Geräte der Fa. Courage + Khazaka electronic GmbH, Köln, Germany, verwendet.

#### 2.1.6.1 TEWAMETER TM 210<sup>®</sup>

Das TEWAMETER<sup>®</sup> (Darstellungen 8a-b) wird zur Messung des TEWL verwendet. Die technischen Details und die Beschreibung des Meßprinzips finden sich in Kapitel 1.3.1. Unter standardisierten Bedingungen, siehe Kapitel 1.5, hat das TEWAMETER<sup>®</sup> eine Meßungenauigkeit von 1 g/m<sup>2</sup>h. Das entspricht, bezogen auf den Meßbereich der vorliegenden Studie ca. 1 %.

Bei der Messung des TEWL wird darauf geachtet, daß die Meßsonde (Fläche = 49 mm<sup>2</sup>) solange auf der Teststelle belassen bleibt, bis das Meßgerät einen stabilen TEWL-Wert anzeigt (ca. 60 Sekunden). Für möglichst genaue Meßwerte wird jede Teststelle dreimal gemessen und jeweils der Mittelwert hieraus gebildet.



Darstellung 8a (li.): TEWAMETER TM 210<sup>®</sup>

Darstellung 8b (re.): Meßsonde TEWAMETER TM 210<sup>®</sup>

#### 2.1.6.2 MEXAMETER MX 16<sup>®</sup>

Das MEXAMETER<sup>®</sup> (Darstellung 9) wird zur Messung des EI benutzt. Die Methodik wird in Kapitel 1.3.2 detailliert erläutert. Die Meßungenauigkeit des MEXAMETER<sup>®</sup> wird seitens des Herstellers mit 5 % angegeben.



Darstellung 9: MEXAMETER MX 16®

### 2.1.6.3 CORNEOMETER CM 820®

Das CORNEOMETER® (Darstellung 10) mißt die HY der Haut. Eine genaue Meßbeschreibung findet sich in Kapitel 1.3.3. Die Meßungenauigkeit des CORNEOMETER® beträgt gemäß Produktbeschreibung 3 %.



Darstellung 10: CORNEOMETER CM 820®

## **2.2 Methode**

### **2.2.1 Anamnese der Probanden**

Vor Untersuchungsbeginn wird eine ausführliche Anamnese des Probanden erhoben. Neben allgemeinen anamnestischen Fragestellungen liegt der Schwerpunkt v.a. auf folgenden dermatologischen Aspekten:

- Ekzemanamnese
- Hautempfindlichkeit
- Allergien
- Ermittlung des Atopiescores mittels Erlanger Atopie-Fragebogen

### **2.2.2 Basismessungen**

Am ersten Untersuchungstag werden vor Applikation der Testpflaster die Parameter

- TEWL
- Erythem
- HY

als Basiswerte der oberen Rückenpartie gemessen.

### **2.2.3 Vorbehandlung der Teststellen**

Die Teststellen werden vor dem Aufkleben der Testpflaster mittels verschiedener Techniken vorbehandelt.

#### **2.2.3.1 Keine Vorbehandlung (VB 1)**

Jeweils eine Teststelle pro Testreihe wird nicht vorbehandelt. Somit handelt es sich hier um einen klassisch okklusiven Applikationstest wie er bereits standardmäßig zur Testung der IKD herangezogen wird. Diese Teststelle dient als Kontroll-Testfeld, sogenannter „Goldstandard“, für die Bewertung der anderen VB.

### 2.2.3.2 Prick-Test mit Lanzette (VB 2)

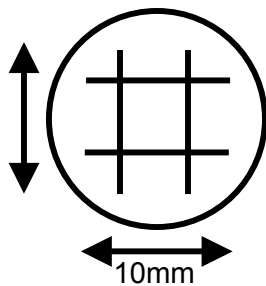
Hierbei erfolgt mit der unter 2.1.5.1 beschriebenen Lanzette ein nicht oder höchstens minimal blutender Einstich in die Haut.

### 2.2.3.3 Prick-Test mit Teststempel (VB 3)

Der Teststempel, Beschreibung siehe Kapitel 2.1.5.2, wird fest in die Haut gedrückt und hinterläßt dabei den Stempelabdruck auf der Teststelle. Es kommt hierbei zu keiner sichtbaren Blutung.

### 2.2.3.4 Scratch-Test mit Lanzette (VB 4)

Hierbei wird mit der Lanzette eine nicht bzw. gering blutende Skarifikation durchgeführt. Folgendes Scratch-Muster wird hierfür verwendet:



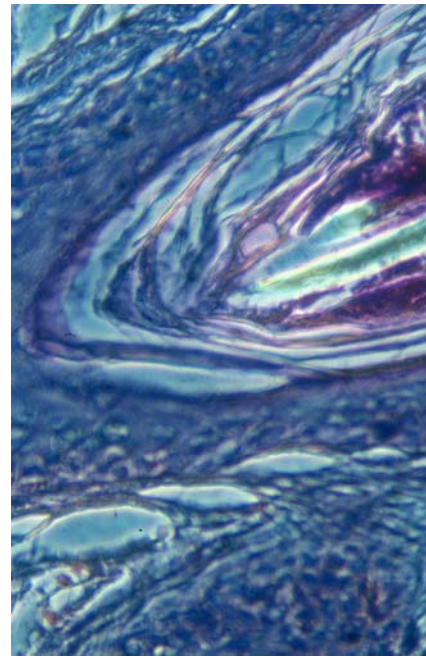
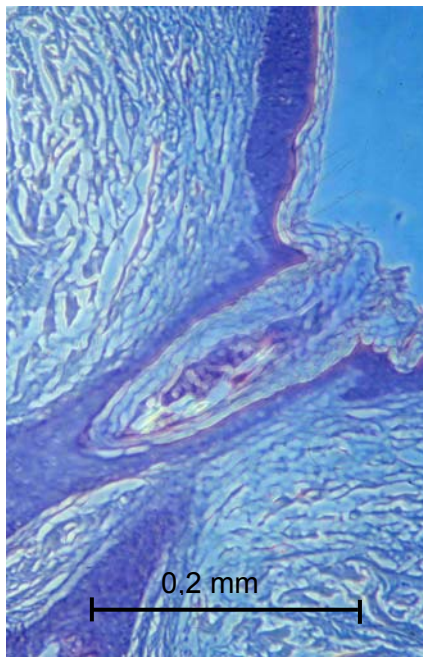
Darstellung 11: Scratch-Muster für die Skarifikation (VB 4) und Inzision (VB 5)

### 2.2.3.5 Standardisierte Inzision mit Skalpell (VB 5)

Mit Hilfe des standardisierten Inzisionsgerätes wird die Haut in eine Tiefe von 0,2 mm, ins Korium reichend, und einer Schlitzlänge von 10 mm inzidiert. Eine Detailbeschreibung des Inzisionsgerätes findet sich unter Kapitel 2.1.5.3. Es wird hier ebenfalls das in Darstellung 11 illustrierte Muster verwendet.

Anhand histologischer Untersuchungen fand sich an Präparaten eine tatsächliche Schnittiefe von 0,1 - 0,2 mm. Das mikroskopische Bild dieser Hautinzision ist in den Darstellungen 12a-b veranschaulicht.





Darstellung 12a (li.): Histologische Darstellung der Inzision bei VB 5 (Übersicht)

Darstellung 12b (re.): Histologie der Inzision bei VB 5 (Detailansicht)

#### 2.2.4 Epikutantest

Insgesamt werden 20 Okklusions-Testkammern Large Finn Chamber® (Durchmesser 11 mm) vorbereitet. Diese 20 Pflaster entsprechen 4 Testreihen der Konzentrationen

- 0,5 % NLS
- 1 % NLS
- 2 % NLS
- 5 % NLS

in aqua dest. mit je 5 Testpflastern und den entsprechend unterschiedlichen VB (siehe Darstellung 13).

Jede Testkammer wird mit einem Filterpapierscheibchen aus Zellulose bestückt. Kurz vor Applikation der Testkammern werden mittels einer Pipette, Eppendorf Reference 100®, der Fa. Eppendorf-Netheler-Hinz GmbH, Hamburg, Germany, jeweils 60 µl der NLS-Lösung der jeweiligen Konzentration zupipettiert. Im Anschluß hieran werden die Testreihen auf die oberen seitlichen Rückenpartien geklebt (siehe Darstellung 13). Nach Aufkleben der Pflaster werden die Finn Chamber® zusätzlich mit einem Fixomull®-Stretch-Pflasterstreifen der Fa. Beiersdorf AG, Hamburg, Germany, fixiert.



4 Stunden-Testreihe		24 Stunden-Testreihe	
2 % NLS	5 % NLS	0,5 % NLS	1 % NLS
Keine VB (VB 1)	Keine VB (VB 1)	Keine VB (VB 1)	Keine VB ( VB1)
Prick-Lanzette (VB 2)	Prick-Lanzette (VB 2)	Prick-Lanzette (VB 2)	Prick-Lanzette (VB 2)
Prick-Teststempel (VB 3)	Prick-Teststempel (VB 3)	Prick-Teststempel (VB 3)	Prick-Teststempel (VB 3)
Scratch-Lanzette (VB 4)	Scratch-Lanzette (VB 4)	Scratch-Lanzette (VB 4)	Scratch-Lanzette (VB 4)
Inzision (VB 5)	Inzision (VB 5)	Inzision (VB 5)	Inzision (VB 5)

Darstellung 13: Applikations-Schema des Epikutantest

### 2.2.5 Meßzeitraum

Bei der 4-STUNDEN-TESTREIHE werden die Testkammern mit den Konzentrationen 2 und 5 % NLS für 4 Stunden auf der Haut belassen, und jeweils unter Beachtung der 30-minütigen Ruhepause vor den Messungen, nach

- 4 Stunden
- 24 Stunden
- 72 Stunden

ausgewertet.

Die 24-STUNDEN-TESTREIHE mit den Konzentrationen 0,5 und 1 % NLS wird für 24 Stunden am Rücken belassen. Die Auswertung erfolgt nach

- 24 Stunden
- 72 Stunden

jeweils nach 30 Minuten Ruhepause vor den Messungen.

An den einzelnen Teststellen wird jeweils

- TEWL
- EI
- HY

gemessen, sowie

- visuell nach folgender Skala, basierend auf der Bewertungsskala von Frosch & Kligman 1979 (1979b), bewertet (Tupker et al., 1997):

Zahlenwert des VS	Kurz-bewertung	Testergebnis
0	Negativ	Keine Reaktion
½	Zweifelhaft	Sehr schwaches Erythem oder minimale Schuppung
1	Schwach	Schwaches Erythem, leichtes Ödem, leichte Schuppung und/ oder leichte Rauigkeit/ Unebenheit
2	Mittel	Mittlerer Grad von: Erythem, Ödem, Schuppung und/ oder Rauigkeit/ Unebenheit oder leichter Grad von Erosionen, Bläschen, Krusten und/ oder Fissuren
3	Stark	Stark ausgeprägter Grad von: Erythem, Ödem, Schuppung, Rauigkeit/ Unebenheit, Erosionen, Bläschen, Blasen, Krusten und/ oder Fissuren
4	Sehr stark/ ätzend	Siehe 3, mit nekrotischen Arealen

Darstellung 14: Visueller Score zur Bewertung der irritativen Testreaktion

### 2.2.6 Standardisierung der Testbedingungen

Bei der Testdurchführung werden die empfohlenen, standardisierten Testbedingungen der „Standardization Group of the European Society of Contact Dermatitis“ für die Testung mit NLS berücksichtigt (Pinnagoda et al., 1990; Tupker et al., 1997).

#### JAHRESZEIT

Die Testungen fanden vorwiegend in den Wintermonaten November 1999 bis März 2001 statt, um jahreszeitlich bedingte Schwankungen möglichst gering zu halten.

#### KLIMA

Durch eine Klimaanlage (Thermotexx®) im Untersuchungsraum wird die Umgebungstemperatur zwischen 20 - 22°C und die rh zwischen 35 - 45 % konstant gehalten. Direktes Licht auf die Testareale und Meßgeräte wird durch die Verwendung diffuser Beleuchtung vermieden.

## RUHEZEIT VOR DEN MESSUNGEN

Vor den Messungen ruhen die Probanden mindestens 30 Minuten im Testraum. Die Testareale sind hierbei nicht bedeckt, um eine Adaptation an die Umgebungsbedingungen zu erreichen. Während der Messungen liegen die Probanden bauchseitig auf einer Untersuchungsliege.

Um zusätzliche Einflußfaktoren zu minimieren sind die Probanden angehalten, während der gesamten Testdauer von 72 Stunden den Kontakt mit Wasser, Feuchtigkeit im Testareal, sowie körperliche Anstrengung zu meiden.

## MEßSCHUTZVORRICHTUNG

Die Messungen werden in einer speziell dafür angefertigten Schutzkammer aus Plexiglas vorgenommen. Die Schutzkammer wird seitlich an der Patientenliege befestigt. Sie ist oben offen, um einen Wärmestau zu vermeiden, wurde jedoch entsprechend hoch gebaut, so daß ein eventueller Luftzug die Testung nicht beeinflussen kann.

Maße der Plexiglaskammer: Höhe = 500 mm; Breite = 570 mm; Tiefe = 360 mm.



Darstellung 15: Plexiglas-Meßschutzvorrichtung für TEWL-Messungen am Rücken

### 2.2.7 Sondertestung

Mit Hilfe einer gesonderten Testung werden die Einflüsse der Barrierschädigung durch VB 5 auf den absoluten TEWL-Wert untersucht. Hierzu wurde ein Proband

mehrfach sowohl mit aqua dest., als auch NLS in den verschiedenen Konzentrationen über 4 bzw. 24 Stunden mit den VB 1 und 5 getestet.

## **2.3 Statistik**

Die statistische Auswertung der erhobenen Daten erfolgte in Zusammenarbeit mit Herrn Dr. Peter Zoefel vom Hochschulrechenzentrum (HRZ) der Philipps-Universität Marburg, sowie dem Institut für Biomathematik der Philipps-Universität Marburg.

Vor der statistischen Auswertung in SPSS 11.0 für Windows® wurden die Werte mit dem Kolmogorov-Smirnov-Test auf Normalverteilung geprüft, sowie eine Abhängigkeit der Teststellen untersucht.

Es folgte die Berechnung von Mittelwerten ( $\bar{x}$ ), Median (im Falle des VS), Standardabweichung ( $s$ ), Minima (Min.) und Maxima (Max.), allgemein betrachtet und innerhalb der einzelnen Variablen Vorbehandlung (VB), Konzentration ( $c$ ) und Zeit.

Mit Hilfe einer dreifaktoriellen Varianzanalyse, dem Scheffé-Test, dem t-Test nach Student, dem U-Test von Mann und Whitney und der Berechnung von Spearman-Rho- bzw. Pearson-Korrelationskoeffizienten wurde dann die detaillierte statistische Auswertung durchgeführt (siehe Kapitel 3).

## **2.4 Methodenkritik**

### **STANDARDISIERUNG DER MEßBEDINGUNGEN**

Da die Untersuchungen der Studie nicht ausschließlich in den Wintermonaten, sondern vereinzelt auch im Frühjahr und Herbst stattfanden, sind die Werte nicht gänzlich unabhängig von jahreszeitlichen Einflüssen.

In der Studie wurde NLS in einer Reinheit von 96,7 %, und nicht wie von der ESCD empfohlen in einer Reinheit von 99 %, verwendet (siehe Kapitel 1.2.5.1 und Kapitel 2.1.3).

### **TESTPFLASTER**

Die verwendeten Testkammern haften nicht gut auf der Haut. Daher wurde zur Fixierung ein Fixomull-Pflaster® (siehe Kapitel 2.2.4) zusätzlich über die Teststreifen geklebt. Die Probanden klagten oftmals über unangenehmes Spannungsgefühl und Schwitzen unter dem Fixationspflaster was vermuten läßt, daß zusätzliche Feuchtigkeit

unter dem Pflaster entstand. Bedingt hierdurch hätte eventuell das Intervall zwischen Testabnahme und Messung verlängert werden müssen, um die erhöhte Restfeuchte vollständig zu verdunsten.

#### MEßZEITPUNKTE

Die exakten Meßzeitpunkte konnten nicht immer eingehalten werden. So sind Zeitdifferenzen von bis zu plus/ minus 60 Minuten möglich.

Desweiteren zeigten Studienergebnisse von Aramaki et al. (2001b), daß die Ablesung 30 Minuten nach Testabnahme womöglich nicht die tatsächlichen Werte widerspiegelt sondern, die TEWL-Werte durch noch im Stratum corneum gespeicherte Feuchtigkeit fälschlich erhöht sind.

#### VISUELLE BEWERTUNG

Trotz eines einzigen Untersuchers erwies sich die visuelle Bewertung der einzelnen Teststellen oftmals als schwierig. Aufgrund der unterschiedlichen Testdauer und Ablesezeitpunkte präsentieren die Testreaktionen oft ein sehr divergentes klinisches Bild. Ältere Reaktionen sind nicht mit akuten Reaktionen zu vergleichen, trotzdem in ihrer Reaktionsstärke nicht unbedingt unterschiedlich zu bewerten. So war oft keine exakte Abstufung bzw. kein exakter Vergleich zwischen den einzelnen Probanden möglich.

#### MEßUNGENAUGKEITEN

Die Meßungenaugkeiten der Meßgeräte TEWAMETER®, MEXAMETER®, CORNEOMETER® werden bei der Ergebnisdarstellung nicht berücksichtigt. Desweiteren müssen Ungenauigkeiten, die z.B. durch die Pipette oder manuelle Anpreßkraft des Inzisionsgerätes entstehen, als zusätzliche Fehlerquellen in Betracht gezogen werden.

#### VERZICHT AUF DIE ANWENDUNG DER LASER-DOPPLER-RHEOMETRIE

In der vorliegenden Studie wurde auf die Verwendung des LD verzichtet. Wie erst nach Studienbeginn veröffentlicht wurde, eignet sich die LD besonders gut für Konzentrationen von größer 0,5 % NLS, die auch in der vorliegenden Studie zur Anwendung kommen (Aramaki et al., 2001a).

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Definitionen und Verwendung von Begriffen

Im Verlauf der Ergebnisdarstellung werden diverse Begriffe verwendet, die wie folgt definiert sind:

- **RELATIVE WERTE**, d.h. die Testwerte sind bereinigt um den Basiswert.  
Dies entspricht:  $\Delta \text{TEWL} = (x_{\text{nach Testung}} - x_{\text{Basis}})$
- Die drei in der Studie veränderten Faktoren, VB, Konzentration und Zeit werden als **VARIABLEN** bezeichnet.
- Die Variable Zeit kennzeichnet den jeweiligen Meßzeitpunkt: 4, 24 oder 72 Stunden.
- **EINFAKTORIELLE AUSWERTUNG**, es werden die Mittelwerte der Meßwerte der jeweiligen Untersuchungsmethode in Abhängigkeit einer Variable, entweder Zeit oder Konzentration oder VB, ausgewertet bzw. dargestellt.
- Im Falle der **DREIFAKTORIELLEN AUSWERTUNG** werden die Mittelwerte der Meßwerte der jeweiligen Untersuchungsmethode in Abhängigkeit aller Variablen, Zeit und Konzentration und VB, getrennt ausgewertet und dargestellt.
- **SIGNIFIKANZ** liegt vor, wenn die Irrtumswahrscheinlichkeit  $p < 0,05$  ist.
- **HOCH SIGNIFIKANT** ist definiert als eine Irrtumswahrscheinlichkeit von  $p < 0,01$ .
- Ein **HÖCHST SIGNIFIKANTES** Ergebnis setzt eine Irrtumswahrscheinlichkeit von  $p < 0,001$  voraus.
- Ein **EINDEUTIGES** Ergebnis liegt vor, wenn sich die Mittelwerte der Meßwerte deutlich von den Basiswerten unter Berücksichtigung der internen Meßfehler der Meßgeräte unterscheiden (siehe Kapitel 3.4).
- Die **4-STUNDEN-TESTREIHE** betrachtet alle Daten der Konzentrationen 2 und 5 % NLS bei einer Applikationsdauer von 4 Stunden über die Meßzeitpunkte 4, 24 und 72 Stunden.
- Die **24-STUNDEN-TESTREIHE** betrachtet alle Daten der Konzentrationen 0,5 und 1 % NLS bei einer Applikationsdauer von 24 Stunden über die Meßzeitpunkte 24 und 72 Stunden.

### **3.2 Statistische Vorgehensweise**

Zuerst wurden die Ergebnisdaten mit dem Kolmogorov-Smirnov-Test auf ihre Verteilung überprüft. Es ergibt sich für die Werte des TEWL, des EI und der HY eine Normalverteilung. Die diskreten Werte des VS sind nicht normalverteilt und werden daher mit verteilungsfreien Testverfahren ausgewertet.

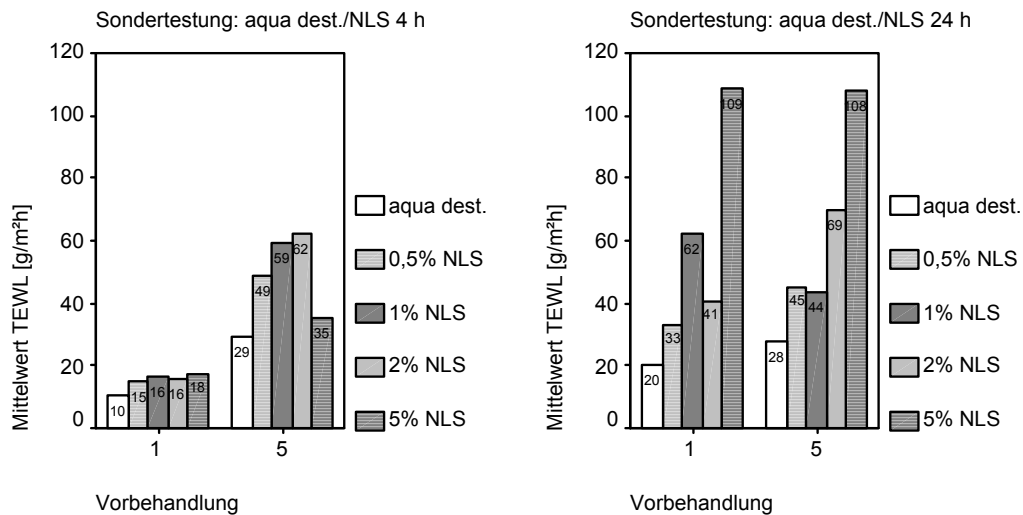
Die Auswertung erfolgt jeweils einfaktoriell, sowie dreifaktoriell aufgeschlüsselt nach VB, Konzentration und Zeit.

Die kumulierten Ergebnisse im Rahmen der einfaktoriellen Darstellung werden v.a. zum Überblick der komplexen Testergebnisse bzw. zur graphischen Veranschaulichung herangezogen. Es schließt sich stets eine detaillierte Auswertung unter Berücksichtigung mehrerer Variablen oder eine dreifaktorielle Auswertung an. Die dreifaktorielle Betrachtung hat die höchste Aussagekraft, da hier keine Ergebnissverzerrungen durch eine Kumulation von Werten möglich sind.

Die statistische Alters- und Geschlechtsverteilung sowie die Häufigkeiten der in Kapitel 2.2.1 beschriebenen Anamnesedaten sind in den Tabellen 1 - 4 des Anhangs dargestellt.

### **3.3 Ergebnisse der Sondertestung**

Die Ergebnisse einer Sondertestung (siehe Kapitel 2.2.7), in der jeweils die VB 1 und 5 sowohl mit aqua dest., als auch den verschiedenen NLS-Konzentrationen für 4 bzw. 24 Stunden getestet wurde, sind in den Tabellen 23 - 24 des Anhangs dargestellt. Ziel dieser Testung war es, den alleinigen Einfluß der Verletzung der Hautbarriere durch die Inzision auf die TEWL-Meßwerte bewerten zu können. In den Darstellungen 16a-b sind diese Ergebnisse gegenübergestellt. Auch unter aqua dest. finden sich erhöhte TEWL-Werte, sowohl bei VB 1 als auch VB 5, dennoch liegen die Werte bei Testung mit NLS deutlich darüber. Es zeigt sich jedoch, daß alleine durch die Inzision, unabhängig von der Testung mit aqua dest. oder NLS, eine Erhöhung der TEWL-Werte zu verzeichnen ist. Wir erachten den Einfluß der Barrierschädigung auf die Vergleichbarkeit der Testergebnisse dennoch als gering, da die Differenz zwischen aqua dest. und NLS eindeutig ist.



Darstellung 16a (li.): Sondertesting; Vergleich aqua dest./ NLS 4 h bei VB 1, 5

Darstellung 16b (re.): Sondertesting; Vergleich aqua dest./ NLS 24 h bei VB 1, 5

### 3.4 Fehlerbetrachtung der biophysikalischen Untersuchungsmethoden

Die Meßgenauigkeit des TEWAMETER® beträgt für Messungen unter standardisierten Bedingungen 1 g/m²h, das entspricht bezogen auf vorliegenden Meßbereich etwa 1 %. Für das MEXAMETER® wird seitens des Herstellers ein Meßfehler von 5 %, sowie für das CORNEOMETER® von 3 % angegeben.

Zur Prüfung, ob trotz des Meßfehlers der Geräte noch eindeutige Ergebnisse vorliegen, gilt folgende mathematische Bedingung :

$x_{\text{Basis}}$ : Mittelwert vor Testung

$s_{\text{Basis}}$ : Standardabweichung der Mittelwerte vor Testung

$x$ : Mittelwert nach Testung

$s$ : Standardabweichung nach Testung

$a$ : Meßgenauigkeit des jeweiligen Meßgerätes in %/ 100

$$[x (1-a) - s (1+a)] - [x_{\text{Basis}} (1+a) + s_{\text{Basis}} (1+a)] > 0$$

Formel 6: Formel zur Berücksichtigung des Meßfehlers der Meßgeräte

Wenn die oben genannte Bedingung (Formel 6) gilt, so sind die Meßwerte vor und nach Testung mit einer Sicherheit von 68 % (dies entspricht 1s) trotz des jeweiligen internen Meßfehlers der Meßgeräte eindeutig zu unterscheiden.

Die Formel 6 beschreibt den ungünstigsten Fall, unter Berücksichtigung der internen Meßfehler, in Bezug auf die Zuordenbarkeit der Meßwerte vor und nach Testung. D.h.



es wird sowohl bei den Mittelwerten vor und nach der Testung, als auch bei den Standardabweichungen vor und nach Testung der jeweilige Meßfehler des Gerätes zu Ungunsten der Eindeutigkeit eingerechnet.

Eine rechnerische Betrachtung sonstiger Einflüsse (siehe Kapitel 1.5.2) wurde nicht durchgeführt.

Diese Bedingung ist für die Werte des TEWL erfüllt, mit Ausnahme des 72 Stunden Wertes bei VB 1 und einer Konzentration von 5 % NLS, und bestätigt diesen somit als eindeutigen Meßparameter.

Für den EI und die HY ist die Bedingung grundsätzlich nicht erfüllt. Die Eindeutigkeit ihrer Testwerte in Abhängigkeit zum Basiswert ist daher fraglich zu bewerten.

### **3.5 Betrachtung absoluter/ relativer Werte**

Für die Entscheidung, ob relative oder absolute Werte zur Auswertung herangezogen werden die Standardabweichung, sowie die Lage und Spannweite der Mittelwerte der verschiedenen Meßparameter betrachtet (beispielhaft für alle Meßmethoden siehe Darstellungen 17a-c; Tabelle 22). Die Mittelwerte der Testwerte für alle Meßmethoden, wie auch die Standardabweichung, liegen stets sehr eng beieinander. Durch die Berechnung einer bivariaten Korrelation ( $r$ ) mit dem Pearson-Korrelationskoeffizienten, ergibt sich bei einfaktorieller Betrachtung eine höchst signifikante Korrelationen zwischen den absoluten und relativen TEWL-Werten. Somit erachten wir es für die folgende statistische Auswertung und Aussagekraft vorliegender Werte nicht von Bedeutung, ob absolute oder relative Daten verwendet werden.

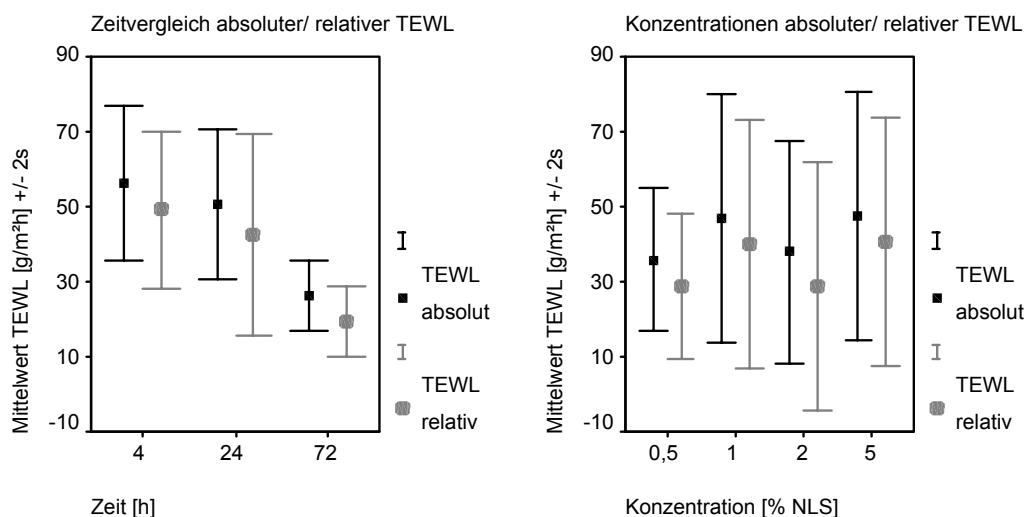
Aufgrund dieser Korrelation zwischen absoluten und relativen Testergebnissen und der somit zu erwartenden Ergebnisübereinstimmung sowie aus Gründen der Transparenz erfolgt die Auswertung der vorliegenden Studiendaten auf Basis der jeweiligen Absolutwerte.

Weitere Kriterien, die für die Verwendung der absoluten Werte sprechen, sind nachfolgend aufgezählt:

- Es ist eine bessere Vergleichbarkeit mit anderen Studienergebnissen gegeben.
- In vorliegender Studie werden keine hautkranken Personen getestet. Da deshalb keine Gruppenbildung hinsichtlich erhöhter Basiswerte erfolgt, ist eine differenzierte Betrachtung der Reaktionsstärke in Abhängigkeit vom Basiswert in dieser Studie generell nicht sinnvoll.

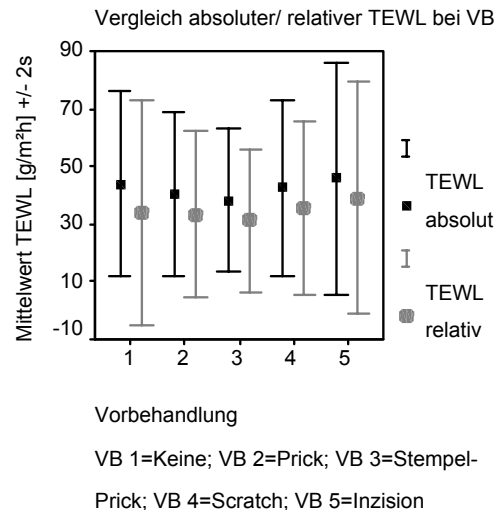
- Es liegen für den VS keine Basiswerte und dementsprechend auch keine relativen Werte vor.
- Für die Messung des EI wäre die Darstellung relativer Werte ungeeignet, da aufgrund des Grundzustandes der Haut, insbesondere dem Bräunungszustand, der Hautdurchblutung, sowie des Hauttyps die Basiswerte stark variieren können und somit die relativen Werte die Testergebnisse bzw. Reaktionsstärke verzerren können.
- Bei der Messung der HY fallen die Testwerte im Testverlauf meist unter den Basiswert ab, so daß sich häufig negative Relativwerte ergeben.

Die Darstellungen 17a-c verdeutlichen graphisch, beispielhaft anhand des TEWL für alle hautphysiologischen Meßmethoden, den Vergleich absoluter und relativer Werte hinsichtlich der in der Studie verwendeten Variablen VB, Konzentration und Zeit.



**Darstellung 17a (li.): Zeitvergleich absoluter/ relativer TEWL-Werte (einfaktoriell)**

**Darstellung 17b (re.): Absoluter/ relativer TEWL nach Konzentrationen (einfaktoriell)**



Darstellung 17c: Absoluter/ relativer TEWL verschiedener VB (einfaktoriell)

## 3.6 Ergebnisdarstellung der einzelnen Untersuchungsmethoden

### 3.6.1 TEWL

Die Testergebnisse der TEWL-Messungen sind detailliert in Tabelle 5 des Anhangs dargestellt.

#### 3.6.1.1 Basis-TEWL

Der in vorliegender Studie erzielte Mittelwert des Basis-TEWL beträgt  $7,0 \pm 2,4$  g/m²h (siehe Tabelle 9). Die nach Geschlecht aufgeteilten Werte sind in Tabelle 10 zusammengefaßt.

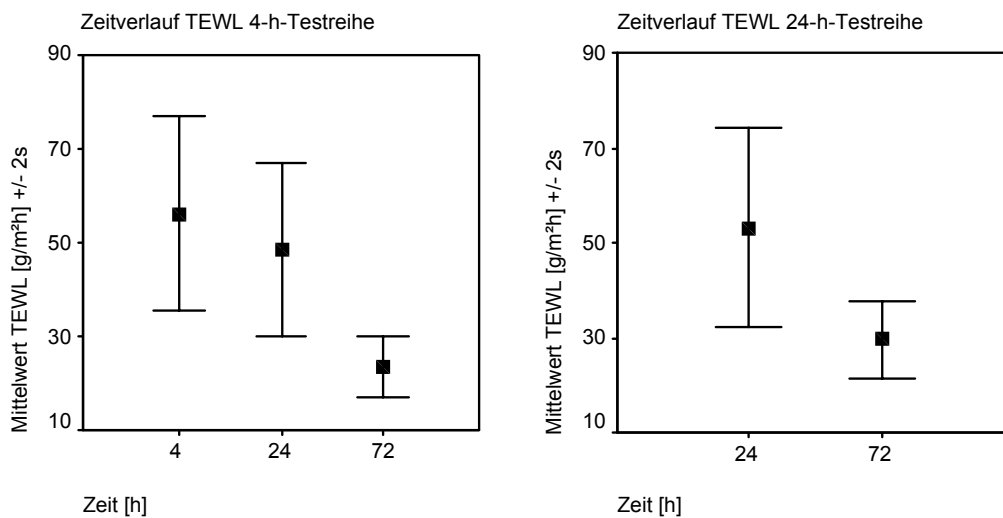
Die Untersuchungsergebnisse wurden mittels deskriptiver statistischer Methoden (Mittelwert, Standardabweichung, Min., Max.) auf Personen mit erhöhten Basiswerten untersucht. Ein erhöhter Wert liegt dann vor, wenn der Basiswert über dem geschlechtsspezifischen Mittelwert plus dessen Standardabweichung der Studienpopulation liegt. Hierdurch werden insgesamt sechs Personen mit erhöhten Basiswerten identifiziert.

Die Anamnese dieser Personen wurde genauer untersucht und es stellte sich keine Häufung spezifischer Anamnesedaten wie Atopie, Allergien, erhöhter Hautempfindlichkeit oder einer positiven Ekzemanamnese dar.

Um nun eine erhöhte Reaktionsbereitschaft der Probanden nachweisen zu können, werden die relativen TEWL-Werte herangezogen. Lediglich zwei der Probanden mit erhöhten Basis-Werten zeigen eine erhöhte Reaktionsbereitschaft zu jeweils zwei unterschiedlichen Meßzeitpunkten (siehe Tabelle 18).

### 3.6.1.2 Zeitverlauf der TEWL-Werte

Die Darstellungen 18a-b veranschaulichen einfaktoriell betrachtet den kontinuierlichen Abfall der TEWL-Werte von Meßzeitpunkt zu Meßzeitpunkt.



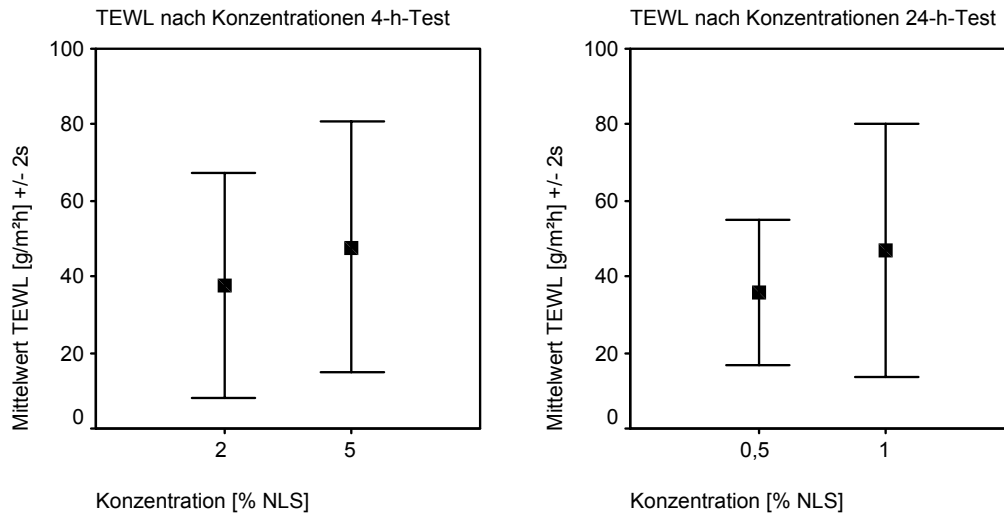
Darstellung 18a (li.): Zeitverlauf des TEWL der 4-h-Testreihe (einfaktoriell)

Darstellung 18b (re.): Zeitverlauf des TEWL der 24-h-Testreihe (einfaktoriell)

Im Zeitverlauf nehmen die TEWL-Werte sowohl für alle Konzentrationen wie auch allen VB von 4 zu 24 und 72 Stunden bzw. 24 zu 72 Stunden hin ab (Tabellen 5, 11).

### 3.6.1.3 Konzentrationsabhängigkeit der TEWL-Werte

Bei einfaktorieller Betrachtung der verschiedenen Konzentrationen unterscheiden sich die Ergebnisse des TEWL für beide Testreihen nicht signifikant voneinander (Darstellungen 19a-b).



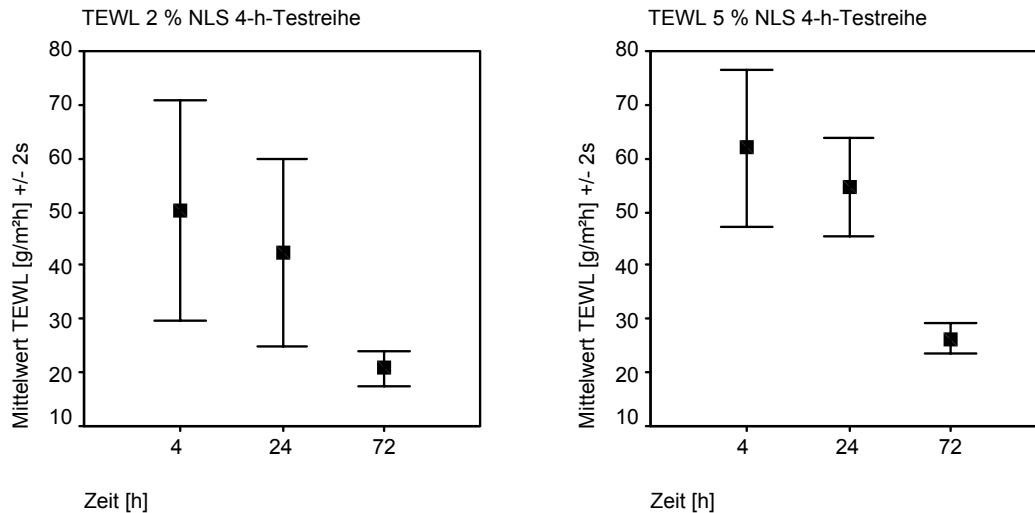
**Darstellung 19a (li.): TEWL nach Konzentrationen 4-h-Testreihe (einfaktoriell)**

**Darstellung 19b (re.): TEWL nach Konzentrationen 24-h-Testreihe (einfaktoriell)**

Betrachtet man nur die Variable Zeit, so zeigen sich zwischen 0,5 und 1 % NLS, sowie zwischen 2 und 5 % NLS höchst signifikante Unterschiede der TEWL-Werte zu allen drei Zeitpunkten.

Um festzustellen, ob Unterschiede zwischen den jeweiligen Konzentrationen vorliegen, d.h. für den 4-Stunden-Test zwischen 2 und 5 % NLS sowie für den 24-Stunden-Test zwischen 0,5 und 1 % NLS werden die jeweiligen Konzentrationen mittels des t-Test nach Student für zwei unabhängige Variablen verglichen. Diese Ergebnisse sind in Tabelle 12 dargestellt. Hier fällt besonders auf, daß im Konzentrationsvergleich von 2 und 5 % NLS bei VB 4 und 5 zu allen Zeitpunkten keine Signifikanzen auftreten.

Bei dreifaktorieller Aufschlüsselung zwischen 2 und 5 % NLS für den 4-Stunden Wert bewegen sich die Mittelwerte in einem Intervall von [7; 16] g/ m²h. Betrachtet man die Standardabweichung bewegt sich diese in ähnlichen Größenordnungen (siehe Darstellungen 20a-b; Tabelle 5).



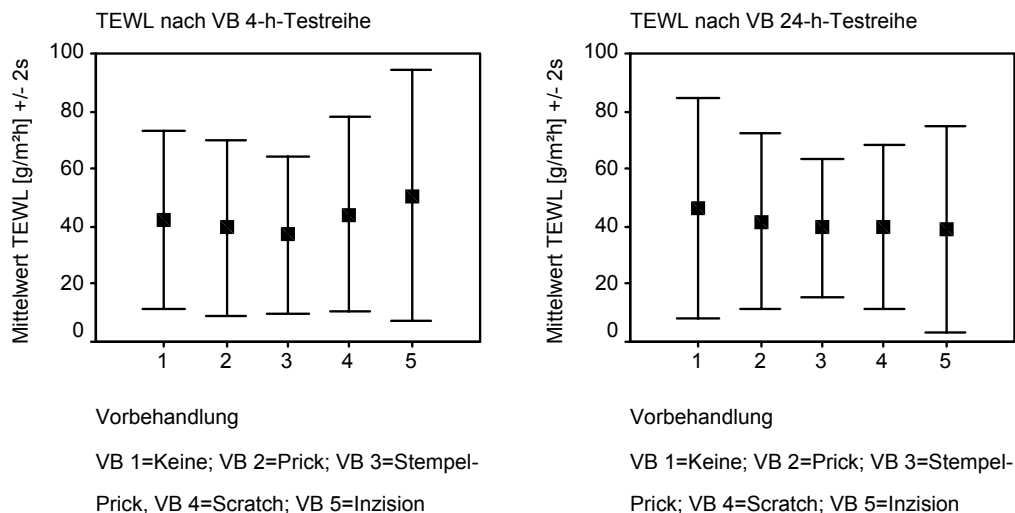
Darstellung 20a (li.): Zeitverlauf des TEWL der 4-h-Testreihe bei 2 % NLS

Darstellung 20b (re.): Zeitverlauf des TEWL 4-h-Testreihe bei 5 % NLS

Die Werte der Graphen mit den Zeitverläufen beider Konzentrationen zeigen bei 5 % NLS ein höheres Wertenniveau und eine geringere Standardabweichung, verhalten sich ansonsten jedoch ähnlich.

### 3.6.1.4 TEWL bei verschiedenen Vorbehandlungen

Bei einfaktorieller Betrachtung zeigt sich zwischen der VB 1 und allen anderen VB kein deutlicher Unterschied der TEWL-Werte (Darstellungen 21a-b ).



Darstellung 21a (li.): TEWL verschiedener VB 4-h-Testreihe (einfaktoriell)

Darstellung 21b (re.): TEWL verschiedener VB 24-h-Testreihe (einfaktoriell)

Die Darstellungen 21a-b zeigen deutlich, daß bei dieser Betrachtung die Mittelwerte der verschiedenen VB eng zusammen liegen. In der 4-Stunden-Testreihe treten die

niedrigsten TEWL-Werte bei VB 3, die höchsten Werte bei VB 5 auf. Hingegen ergeben sich in der 24-Stunden-Testreihe die höchsten Werte bei VB 1, die niedrigsten bei VB 5, wobei unter VB 3 in jeder der beiden Testreihen die geringste Streuung zu verzeichnen ist.

Im Vergleich der VB 1 und 5 zeigt sich in der 4-Stunden-Testreihe die höchste Streuung bei VB 5, in der 24-Stunden-Testreihe hingegen bei VB 1. Bei detaillierter Auswertung zeigt sich im Vergleich dieser beiden VB jedoch eine generell geringere Streuung bei VB 5.

Mit dem t-Test nach Student wurden die einzelnen VB jeweils mit der VB 1 verglichen (Tabelle 13). Es zeigt sich deutlich, daß zwischen den VB 1 und 2 keinerlei Signifikanzen auftreten. Besonders interessant im Sinne der Fragestellung sind die höchst signifikanten Unterschiede zwischen VB 1 und 5 in der 4-Stunden-Testreihe bei 2 und 5 % NLS zum Zeitpunkt 4 Stunden. Eine auffällige Häufung signifikanter Ergebnisunterschiede zeigt sich auch zwischen der VB 1 und 3, der VB 1 und 4, sowie der VB 1 und 5 in der 24-Stunden-Testreihe mit 1 % NLS zum Zeitpunkt 24 Stunden. Zwischen den VB 1 und 5 zeigen sich weiterhin bei 2 % zu 24 Stunden hoch signifikante Ergebnisunterschiede. Ebenso tritt in der 24-Stunden-Testreihe eine Signifikanz zwischen VB 1 und 5 bei 72 Stunden auf.

Bei dreifaktorieller Auswertung zeigen sich bei VB 5, einer Konzentration von 5 % NLS zum Zeitpunkt 4 Stunden die höchsten TEWL-Werte.

Die VB 5 zeigt zum ersten Meßzeitpunkt signifikant höhere TEWL-Werte als VB 1. Diese Unterschiede erscheinen aber zum zweiten Meßzeitpunkt nicht mehr signifikant, sondern tendieren sogar zu vergleichsweise erniedrigten Werten. Die anderen VB zeigen zu beiden Auswertungszeitpunkten tendenziell niedrige Testwerte als VB 1.

Im Rahmen der in Kapitel 3.3. erläuterten Sondertestung fiel im speziellen Kontext zur VB auf, daß der Unterschied zwischen aqua dest. und den beiden Konzentrationen der 24-stündigen Applikation (0,5 und 1 % NLS) unter VB 1 deutlicher ausfällt als unter VB 5.

### **3.6.2 Visueller Score**

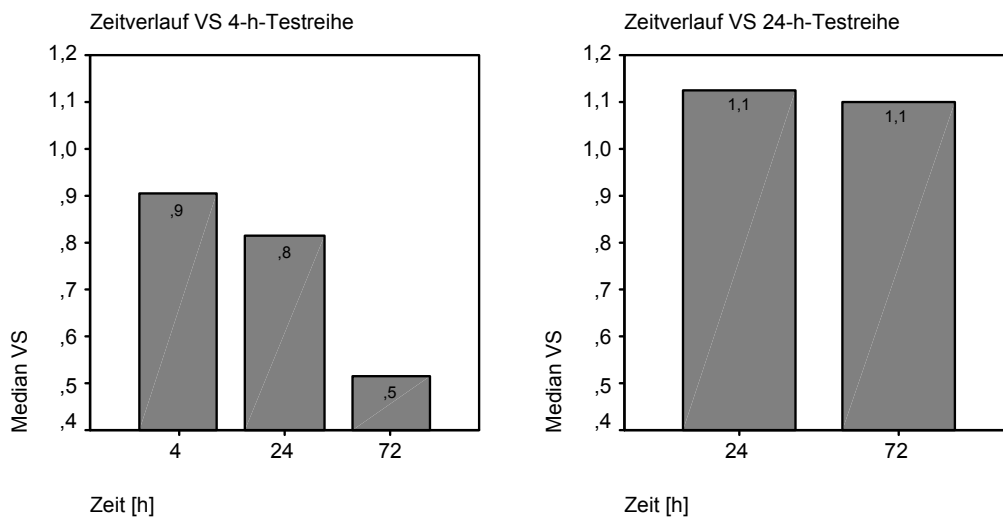
Wie bereits einleitend beschrieben, liegt für die Werte des VS eine beliebige Verteilung, sowie diskrete Werteverteilung [0; 4] vor. Daher wird zur Auswertung des

VS der Median herangezogen. Die Testwerte des VS finden sich detailliert in Tabelle 6 des Anhangs.

Die nicht diskreten Werte in den Darstellungen und Tabellen des VS ergeben sich aufgrund der Darstellung von Mittelwerten über alle Mediane der jeweiligen Datenreihe.

### 3.6.2.1 Zeitverlauf des visuellen Score

Anhand vorliegender einfaktorieller Auswertung fällt der VS von 4 zu 24 und 72 bzw. 24 zu 72 Stunden ab (Darstellungen 22a-b).



Darstellung 22a (li.): Zeitverlauf des VS der 4-h-Testreihe (einfaktoriell)

Darstellung 22b (re.): Zeitverlauf des VS der 24-h-Testreihe (einfaktoriell)

Bei detaillierter Auswertung des VS stellen sich jedoch äußerst unterschiedliche Verläufe, u.a. auch zeitverzögerte Anstiege des VS, dar. Auffällig ist hier v.a. ein steiler Anstieg des VS von 24 nach 72 Stunden bei einer Konzentration von 0,5 % NLS (24-h-Test), wohingegen bei allen anderen Konzentrationen die Werte von Meßzeitpunkt zu Meßzeitpunkt rückläufig sind.

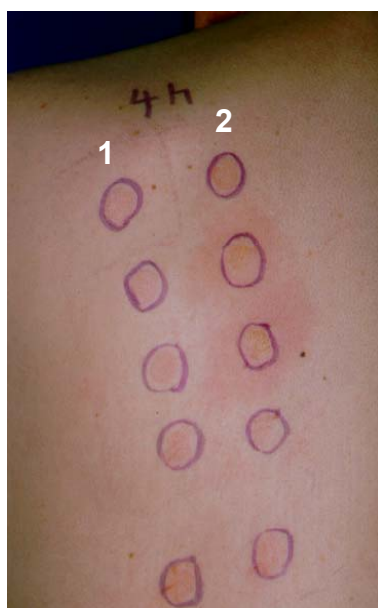
Bei dreifaktorieller Betrachtung zeigt sich ein nicht kategorisierbares Verhalten der Werte des VS. Diese sind deshalb zur Verdeutlichung in Tabelle 6 aufgelistet. Die Darstellungen 23a-c veranschaulichen den zeitlichen Verlauf des VS bei 4, 24 und 72 Stunden anhand klinischer Testreaktionen eines Probanden (Applikations-Schema des Epikutantest siehe auch Darstellung 13) .

In der 4-Stunden-Testreihe (siehe Darstellung 23a) sind 30 Minuten nach Testabnahme v.a. die bei 5 % NLS und VB 1 - 3 deutlich sichtbaren Reaktionen



auffällig. Darstellung 23b zeigt an diesen Teststellen anschaulich die nach 24 Stunden aufgetretenen Nekrosen und Krusten. Hingegen ergeben sich in der 24-Stunden-Testreihe bei beiden Konzentrationen v.a. bei VB 1 starke Reaktionen. Zum Zeitpunkt 72 Stunden sieht man auch an diesen Teststellen eine Veränderung der Reaktionen von zuvor eher inflammatorischem Charakter hin zu trockenen, teils krustigen, nekrotischen Veränderungen (Darstellung 23c), v.a. sichtbar an den Reaktionen der 4-Stunden-Testung unter 5 % NLS bei VB 1 - 3.

Insgesamt zeigt sich also eine Tendenz, daß bei visueller Bewertung die VB 1 - 3 stärkere Reaktionen zeigen als die VB 4 und 5 (siehe auch Kapitel 3.6.2.3).

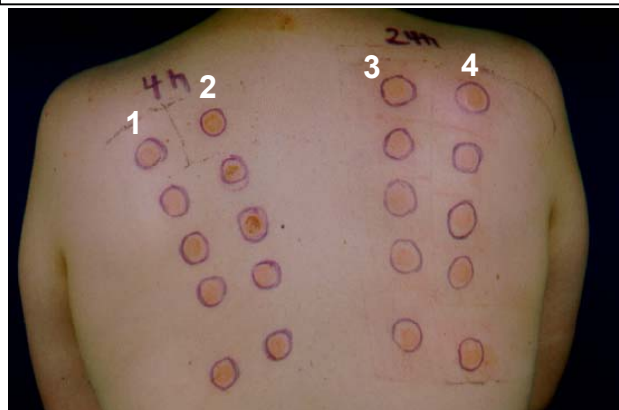


Applikationsschema (siehe auch Darstellung 13):

Li. Bild: 4-h-Testreihe zu 4 h; Re. Bild: 4- und 24-h-Testreihe zu 24 h; Bild unten: 4- und 24-h-Testreihe zu 72 h.

Reihe 1: 2 % NLS; Reihe 2: 5 % NLS; Reihe 3: 0,5 % NLS;

Reihe 4: 1 % NLS; von oben nach unten jeweils VB 1 - 5



Darstellung 23a (li.): Visuelle Reaktionen nach 4 h

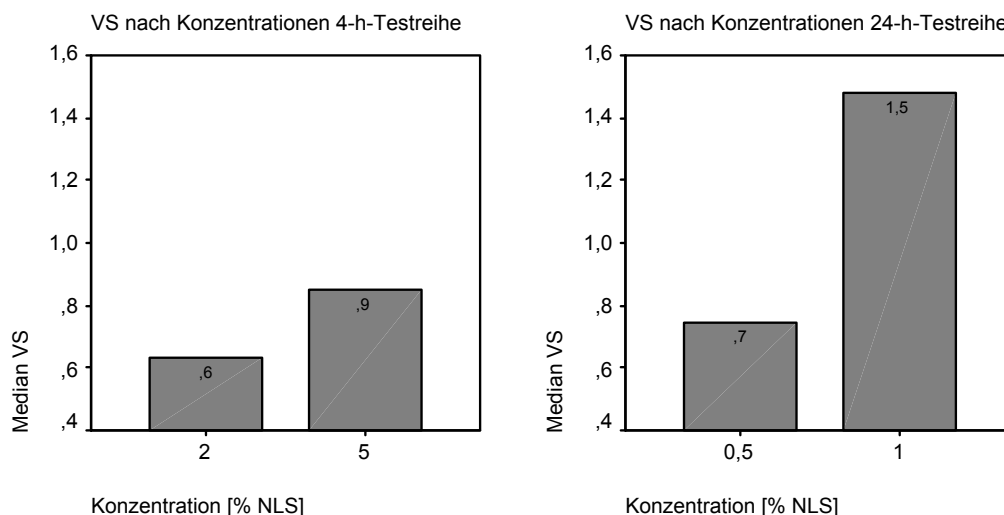
Darstellung 23b (re.): Visuelle Reaktionen nach 24 h



Darstellung 23c: Visuelle Reaktionen nach 72 h

### 3.6.2.2 Konzentrationsabhängigkeit des visuellen Score

Wie die Darstellungen 24a-b zeigen, nimmt der VS bei einer Konzentration von 1 % NLS die höchsten Werte an. Mit Hilfe des Mann-Whitney-Tests für beliebige, unabhängige Werte werden die Konzentrationen 0,5 und 1 % NLS sowie 2 und 5 % NLS miteinander verglichen.



Darstellung 24a (li.): VS nach Konzentrationen 4-h-Testreihe (einfaktoriell)

Darstellung 24b (re.): VS nach Konzentrationen 24-h-Testreihe (einfaktoriell)

Sowohl einfaktoriell, als auch bei detaillierter Betrachtung der zeitlichen Variable (siehe Tabelle 14) ergeben sich für die Konzentrationen von 0,5 und 1 % NLS, sowie die Konzentrationen 2 und 5 % NLS höchst signifikante bzw. signifikante Unterschiede. Die Darstellungen 25a-b dokumentieren anhand beobachteter klinischer Testreaktionen beispielhaft den Konzentrationsvergleich zwischen 2 und 5 % NLS.



Darstellung 25a (li.): Vergleich VS 2 und 5 % NLS unter VB 5 bei 24 h (v. l. n. r.)



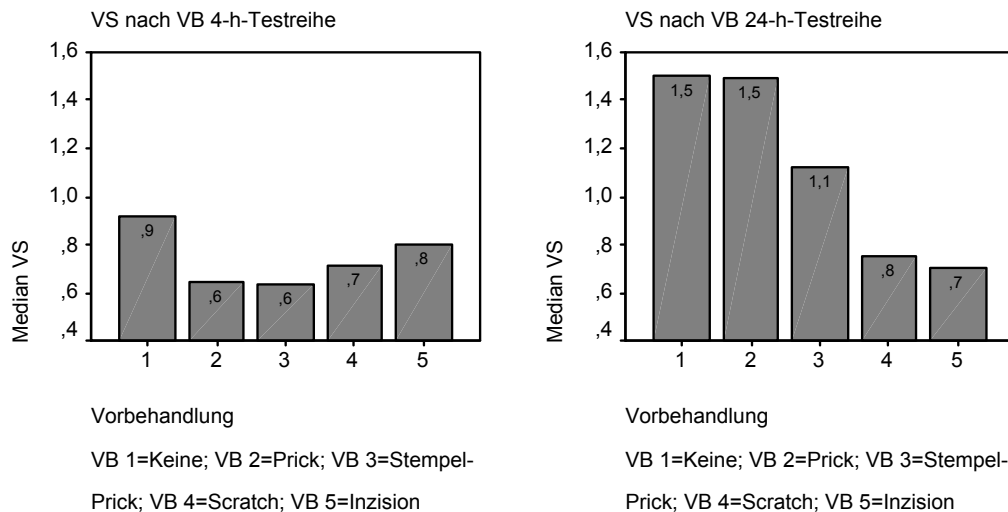
Darstellung 25b (re.): Vergleich VS 2 und 5 % NLS unter VB 5 bei 72 h (v. l. n. r.)

### 3.6.2.3 Visueller Score bei verschiedenen Vorbehandlungen

Die Darstellungen 26a-b veranschaulichen einfaktoriell die Unterschiede des VS der einzelnen VB. Hiernach fallen die VS von VB 1 zu VB 5 deutlich ab. In der 4-Stunden-

Testreihe werden die höchsten Werte bei VB 1, die niedrigsten bei VB 3 erreicht. Im Gegensatz dazu finden sich in der 24-Stunden-Testreihe die höchsten Werte bei VB 1 und 2, und interessanterweise treten die niedrigsten Werte hier unter VB 5 auf.

Mittels des Mann-Whitney-Test ergeben sich einfaktoriell aber nur im Vergleich der VB 1 und 4 und der VB 1 und 5 signifikante Ergebnisunterschiede des VS, die sich bei Auswertung der einzelnen Testreihen jedoch nicht bestätigen.



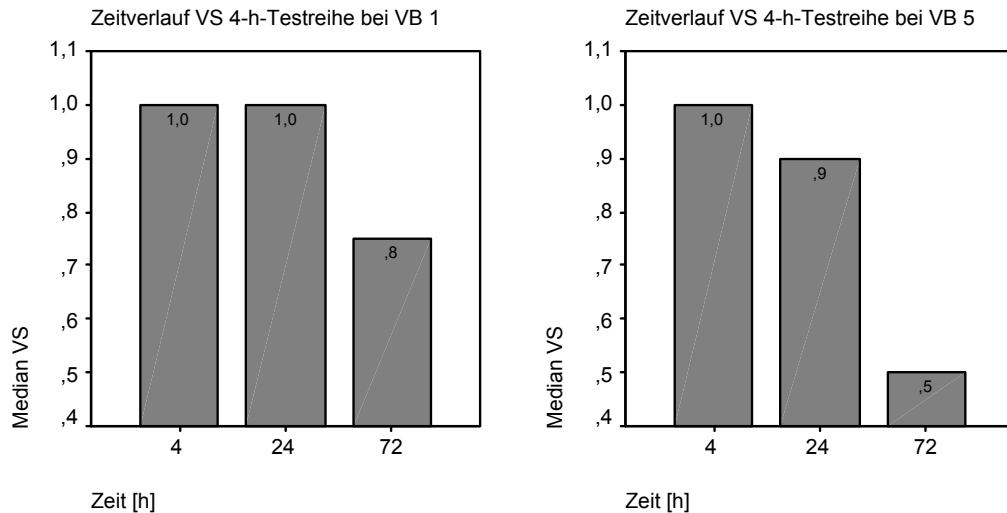
**Darstellung 26a (li.): VS verschiedener VB der 4-h-Testreihe (einfaktoriell)**

**Darstellung 26b (re.): VS verschiedener VB der 24-h-Testreihe (einfaktoriell)**

Im Vergleich der VB jeweils mit VB 1 und zusätzlicher Betrachtung der Variable Zeit finden sich die in Tabelle 15 aufgeführten Unterschiede. Auffällig ist hier, daß sich die 4-Stunden-Werte in keiner Vergleichsgruppe signifikant unterscheiden.

Bei detaillierter Betrachtung zeigen sich aber, im Gegensatz zu den einfaktoriell kumulierten Ergebnisdarstellungen, die VS stets absteigend von VB 1 zu VB 5, passend zu den klinischen Beobachtungen (siehe Kapitel 3.6.2.1).

Unter genauer Betrachtung der zeitlichen Variable zeigen die VB 1, 2 und 3 einen nahezu gleichbleibenden VS bei 4, 24 und 72 Stunden. Im Gegensatz dazu sind bei den VB 4 und 5 zum Zeitpunkt 4 Stunden die höchsten Scores erreicht, die dann nach 24 Stunden bereits leicht und zu 72 Stunden hin deutlich abfallen. Zur Verdeutlichung sind die VB 1 und 5 in den Darstellungen 27a-b gegenübergestellt.



Darstellung 27a (li.): Zeitverlauf des VS 4-h-Testreihe bei VB 1

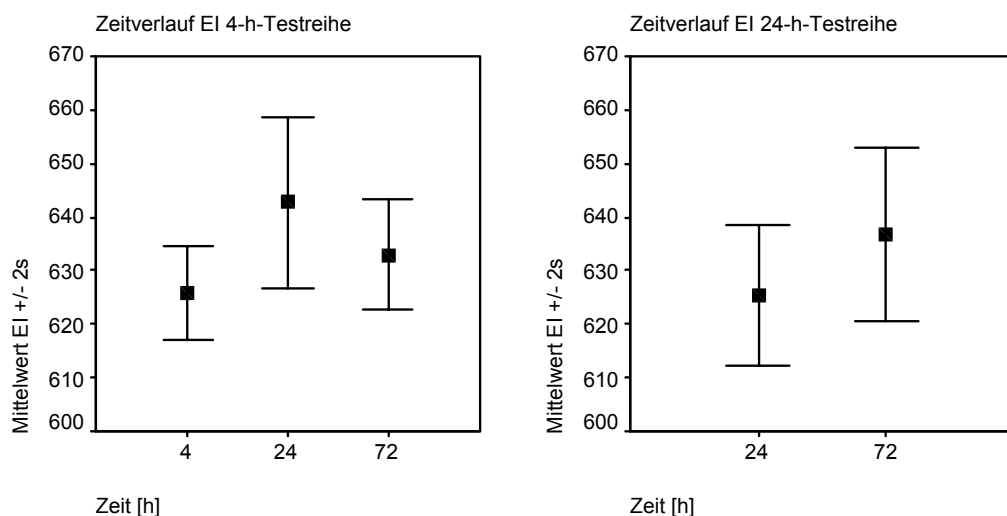
Darstellung 27b (re.): Zeitverlauf des VS 4-h-Testreihe bei VB 5

### 3.6.3 Erythem-Index

Der Mittelwert des Basis-EI beträgt 594,8 +/- 28,8 (siehe Tabelle 9). Die dreifaktoriell aufgeschlüsselten Testwerte des EI finden sich in Tabelle 7 des Anhangs.

#### 3.6.3.1 Zeitverlauf des Erythem-Index

Einfaktoriell steigen die Werte des EI von 4 zu 24 Stunden (4-Stunden-Testreihe) bzw. 24 zu 72 Stunden (24-Stunden-Testreihe) (Darstellungen 28a-b) an. Es kann somit auch hier, wie beim VS, von einer verzögerten Reaktion gesprochen werden.



Darstellung 28a (li.): Zeitverlauf des EI der 4-h-Testreihe (einfaktoriell)

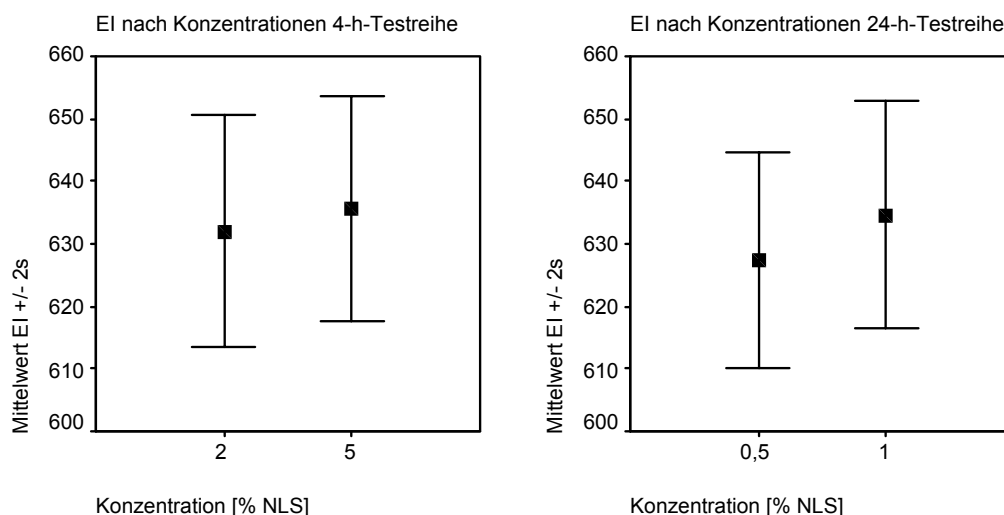
Darstellung 28b (re.): Zeitverlauf des EI der 24-h-Testreihe (einfaktoriell)

Bei Betrachtung des EI in Bezug auf die verschiedenen VB und deren Zeitverläufe zeigt sich für alle VB ein Anstieg von 4 nach 24 Stunden. Bei den VB 1 - 3 steigen diese zu 72 Stunden weiter an und erreichen hier ihre höchsten Werte. Bei den VB 4 und 5 werden die höchsten Werte schon bei 24 Stunden gemessen, die dann zu 72 Stunden wieder rückläufig sind.

Auf Ebene einzelner Konzentrationen findet sich sowohl bei 0,5 und 1 % NLS als auch 2 und 5 % NLS eine Steigerung des EI von der ersten zur zweiten Messung. Die höchsten Indizes werden also jeweils zum zweiten Meßzeitpunkt erzielt.

### 3.6.3.2 Konzentrationsabhängigkeit des Erythem-Index

Der EI ist sowohl von 0,5 zu 1 % NLS als auch von 2 zu 5 % NLS ansteigend (siehe Darstellungen 29a-b), zeigt einfaktoriell ausgewertet jedoch weder zwischen 0,5 und 1 % NLS noch zwischen 2 und 5 % NLS signifikante Unterschiede.



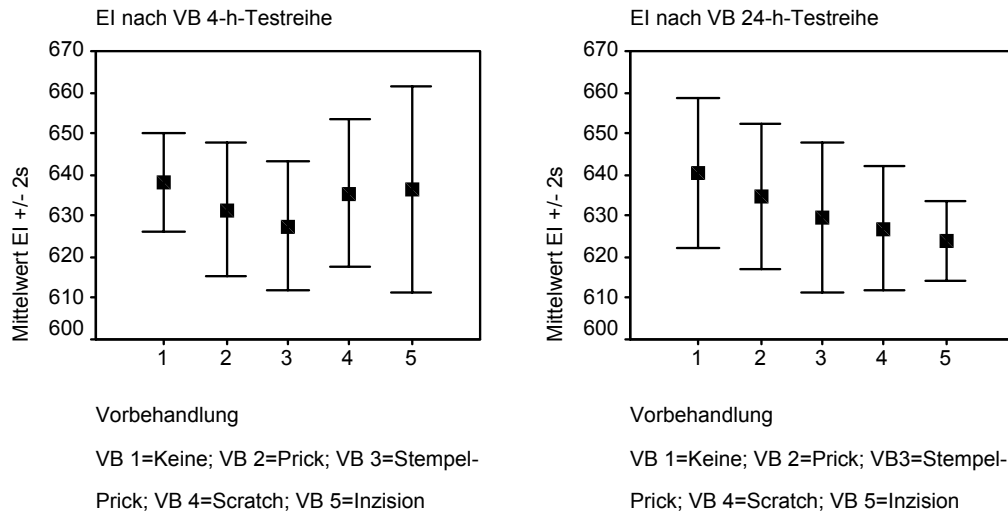
Darstellung 29a (li.): EI nach Konzentrationen 4-h-Testreihe (einfaktoriell)

Darstellung 29b (re.): EI nach Konzentrationen 24-h-Testreihe (einfaktoriell)

Geht man nun auf die Variablen Zeit und Konzentration genauer ein, so ergibt sich nur im Vergleich 0,5 und 1% NLS ein signifikanter Anstieg des EI zu allen Zeitpunkten.

### 3.6.3.3 Erythem-Index bei verschiedenen Vorbehandlungen

Innerhalb der verschiedenen VB unterscheidet sich der EI einfaktoriell in der 4- und 24-Stunden-Testreihe nicht signifikant von VB 1 zu allen anderen VB (Darstellungen 30a-b).



**Darstellung 30a (li.): EI verschiedener VB der 4-h-Testreihe (einfaktoriell)**

**Darstellung 30b (re.): EI verschiedener VB der 24-h-Testreihe (einfaktoriell)**

Bei detaillierter Auswertung zeigen sich im 4-Stunden-Test signifikante Unterschiede des EI zwischen VB 1 und 5.

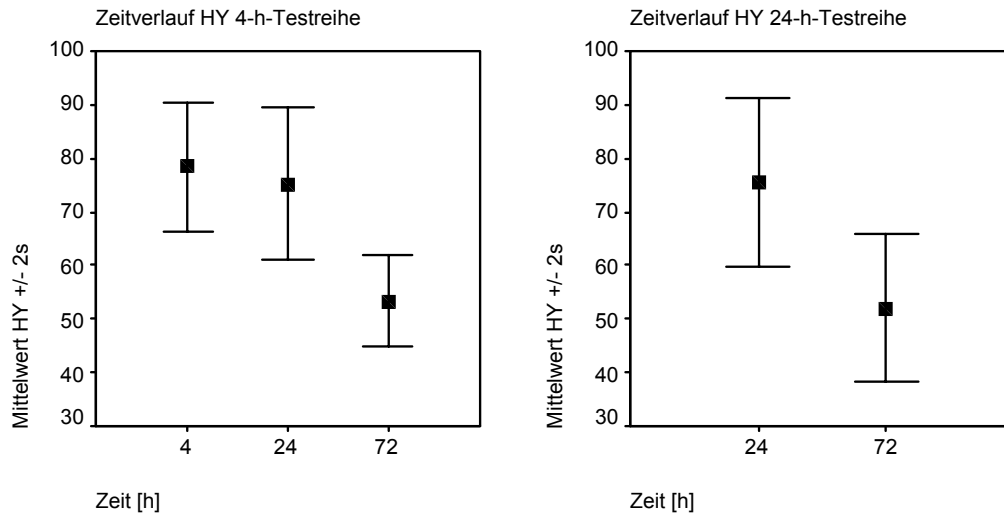
Die dreifaktoriell mit dem t-Test nach Student aufgeschlüsselten Ergebnisunterschiede sind in Tabelle 16 zusammengestellt. Es liegen hier nur zum Zeitpunkt 72 Stunden signifikante Unterschiede bei 0,5 und 1 % NLS (24-Stunden-Testreihe) vor.

### 3.6.4 Hydration

Der Mittelwert der Basiswerte der HY beträgt 68,7 +/- 9,4 (siehe Tabelle 9). Die Ergebnisse der Hydrationsmessungen sind in Tabelle 8 des Anhangs dargestellt.

#### 3.6.4.1 Zeitverlauf der Hydrationswerte

In der einfaktoriellen Betrachtung ist der Anstieg der HY gegenüber dem Basiswert (Tabellen 8, 9) und dem darauf folgenden langsamen Abfall gut ersichtlich (Darstellungen 31a-b). So finden sich bei 4 Stunden die höchsten Werte. Der 72 Stunden Wert liegt deutlich niedriger und befindet sich letztlich unterhalb des beschriebenen Basiswertes der HY. In der 4-Stunden-Testreihe findet sich interessanterweise zum Zeitpunkt 72 Stunden die geringste Streuung der Testwerte.



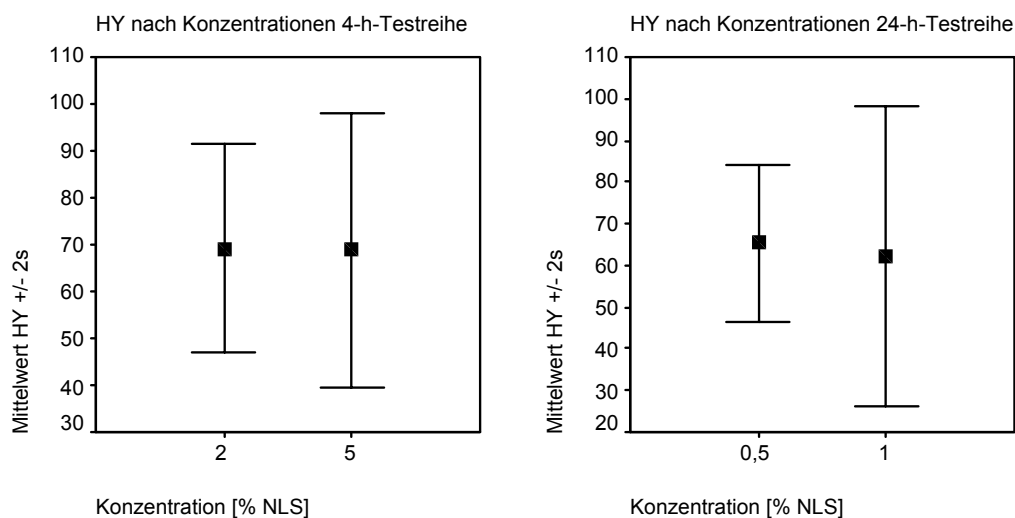
Darstellung 31a (li.): Zeitverlauf der HY der 4-h-Testreihe (einfaktoriell)

Darstellung 31b (re.): Zeitverlauf der HY der 24-h-Testreihe (einfaktoriell)

Bei Auswertung einzelner Variablen zeigt sich sowohl für die Konzentration als auch für die VB stets ein Abfall von Meßzeitpunkt zu Meßzeitpunkt mit den höchsten Werten jeweils direkt nach Testabnahme. Die detailliert aufgeschlüsselten Werte finden sich in Tabelle 8.

### 3.6.4.2 Konzentrationsabhängigkeit der Hydration

Einfaktoriell betrachtet findet sich zwischen den Konzentration 0,5 und 1 % NLS sowie 2 und 5 % NLS kein signifikanter Unterschied der Hydrationswerte (Darstellungen 32a-b).



Darstellung 32a (li.): HY nach Konzentrationen 4-h-Testreihe (einfaktoriell)

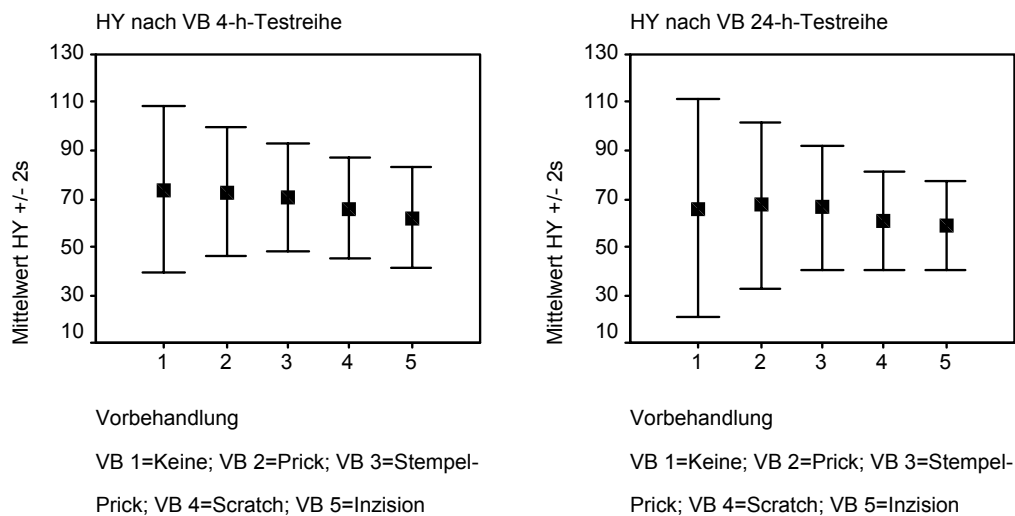
Darstellung 32b (re.): HY nach Konzentrationen 24-h-Testreihe (einfaktoriell)

Die Darstellungen 32a-b legen dar, daß bei einfaktorieller Betrachtung die Hydrationswerte der jeweiligen Testreihen von 4- und 24-Stunden bei jeweils beiden Konzentrationen jeweils sehr ähnliche Werte annehmen.

Betrachtet man die Variable Zeit genauer, so zeigt sich zwischen den Konzentrationen 0,5 und 1 % NLS bei 24 Stunden eine hoch signifikante, sowie bei 72 Stunden eine höchst signifikante Konzentrationsabhängigkeit. Die Konzentrationen 2 und 5 % NLS unterscheiden sich nur bei 72 Stunden höchst signifikant.

### 3.6.4.3 Hydration unter verschiedenen Vorbehandlungen

Die Darstellungen 33a-b machen deutlich, daß sich die Werte der HY einfaktoriell bei den VB 1 - 3 kaum unterscheiden, hingegen die VB 4 und 5 sichtlich geringere Werte annehmen. Betrachtet man dies genauer mit dem t-Test nach Student, so liegen einfaktoriell aber keine signifikanten Unterschiede zwischen VB 1 und den anderen VB vor.



**Darstellung 33 a (li.): HY verschiedener VB der 4-h-Testreihe (einfaktoriell)**

**Darstellung 33b (re.): HY verschiedener VB der 24-h-Testreihe (einfaktoriell)**

Die Graphiken veranschaulichen auch die stetige Verringerung der Streuung von VB 1 zu VB 5 für beide Testreihen.

Dreifaktoriell betrachtet ergibt sich mit dem t-Test nach Student die in Tabelle 17 aufgeführte Verteilung. Es fällt hier auf, daß sich die VB 1 und 2 nicht signifikant unterscheiden, die VB 1 und 3 nur teilweise, die Unterschiede zwischen VB 1 und 4, sowie zwischen VB 1 und 5 hingegen bei 4 und 24 Stunden stets signifikant sind.



Desweiteren ist auffällig, daß bei 72 Stunden nur bei einer Konzentration von 1 % NLS statistisch relevante Unterschiede auftreten.

### **3.7 Übergreifende Thesenbetrachtung**

#### **3.7.1 Zusammenhang Basis-TEWL-Werte und Reaktionsstärke (H1<sub>0</sub>)**

Um ein verstärktes Irritationspotential von Personen mit erhöhtem Basis-TEWL zu beurteilen, werden die Ergebnisse vor und nach NLS-Testung herangezogen. Die TEWL-Werte der einzelnen Personen mit erhöhten Basiswerten (siehe Kapitel 3.6.1.1) werden mit dem TEWL-Mittelwert plus dessen Standardabweichung verglichen. Liegt der Mittelwert der Testwerte der einzelnen Zeitpunkte 4, 24 und 72 Stunden darüber, wird dieser als erhöht erachtet (siehe Tabelle 18).

Betrachtet man die Mittelwerte nach Testung genauer, so zeigen zwei der Probanden sowohl bei 4, 24 und 72 Stunden stark erhöhte Werte. Bei drei der Probanden konnten vereinzelt zu verschiedenen Zeitpunkten erhöhte TEWL-Werte nach Testung gefunden werden. Der verbleibende Proband lag zu allen Zeitpunkten unterhalb des Grenzwertes.

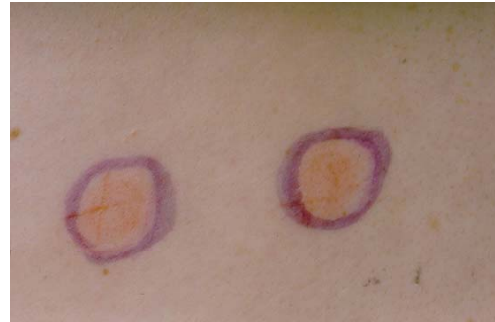
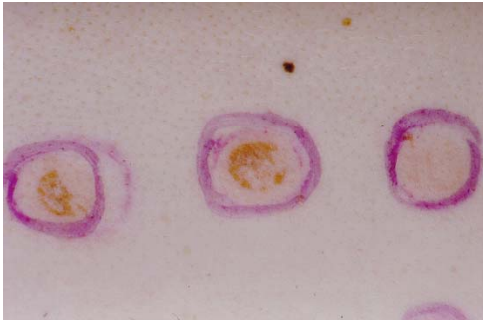
Genauere Ergebnisse liefert hier jedoch die Betrachtung der relativen Werte. Hierdurch können zwei Personen mit erhöhten Werten identifiziert werden (siehe Tabelle 18). Aufgrund der sehr geringen Anzahl an Probanden mit erhöhten Basiswerten ist aber keine statistische Aussage über den Zusammenhang zwischen erhöhten Basiswerten, höheren Testwerten und entsprechend erhöhter Hautempfindlichkeit für Irritantien möglich. Anhand vorliegender Daten ist somit nicht ausreichend beurteilbar, ob Patienten mit erhöhten Basiswerten auch erhöhte Testergebnisse nach NLS-Testung zeigen. Die Hypothese H1<sub>0</sub> kann daher nicht bewertet werden.

#### **3.7.2 Standardisierbarkeit des NLS-Test durch Vorbehandlungen (H2<sub>0</sub>)**

Ziel der Anwendung verschiedener VB ist es, den NLS-Test zu verkürzen, zu objektivieren und zu standardisieren, um eine geringere Irrtumswahrscheinlichkeit zu erzielen. Hierzu werden fünf verschiedene VB angewendet, die in Kapitel 2.2.3 detailliert beschrieben sind. Mit Hilfe verschiedener statistischer Methoden wird untersucht, ob durch die Anwendung dieser VB, im Vergleich zum derzeitigen

„Goldstandard“, der reinen Applikation ohne VB (VB 1), signifikant unterschiedliche Testergebnisse resultieren.

Die visuell sichtbaren Testreaktionen der verschiedenen VB sind in den Darstellungen 34a-b dokumentiert sowie in Kapitel 2.2.3 morphologisch beschrieben.



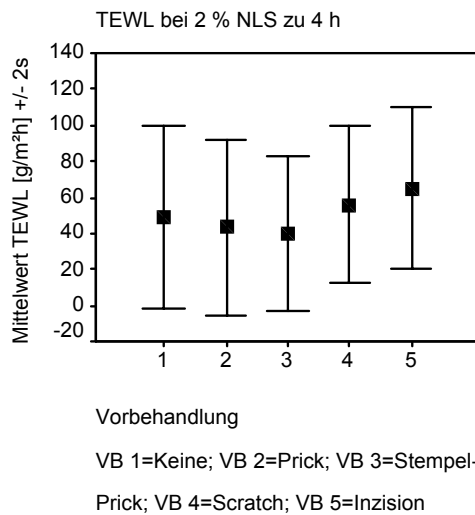
Darstellung 34a (li.): Testreaktionen VB 1 - 3 unter 5 % NLS bei 24 h (v. l. n. r.)

Darstellung 34b (re.): Testreaktionen VB 4 - 5 unter 5 % NLS bei 24 h (v. l. n. r.)

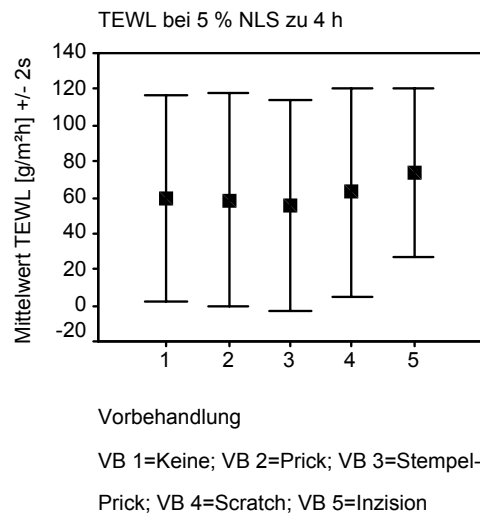
Auf die bereits in Kapitel 3.6.1.4 erläuterten Ergebnisse des t-Test nach Student (siehe Tabelle 13) wird an dieser Stelle nochmals verwiesen.

Zusammenfassend läßt sich für den 4-Stunden-Test, da dieser für die vorliegende Arbeit von besonderem Interesse, ein Unterschied zwischen den VB 1 und 5 lediglich zum Zeitpunkt 4 Stunden beschreiben.

Die Darstellungen 35a-b zeigen jeweils die Werte verschiedener VB der beiden Konzentrationen der 4-Stunden-Testreihe. Es zeigen sich hier kaum Abweichungen zwischen VB 1 und 5. Es wird aber deutlich, daß die VB 5 hier stets die höchsten Testwerte aller VB liefert. Ob die VB 5 jedoch automatisch bessere, standardisiertere Ergebnisse liefert, kann erst durch genauere Betrachtung der Streuung beantwortet werden. Die Spannweite (Tabelle 5) zeigt zwischen den VB 1 und 5 eine ähnliche Verteilung. Betrachtet man die Standardabweichung, so finden sich jedoch deutliche Unterschiede zwischen den VB 1 und 5, wobei diese bei VB 5 stets geringere Werte annimmt als bei VB 1 (Darstellungen 35a-b).



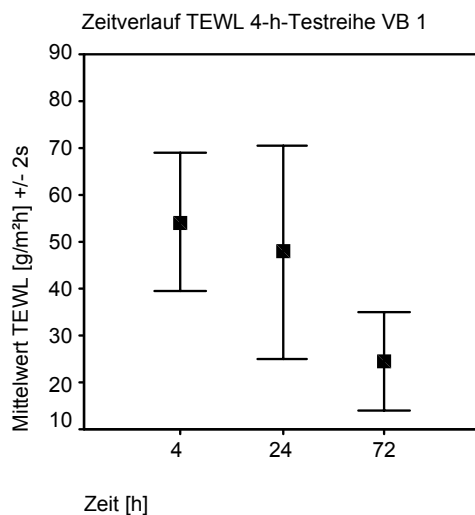
**Darstellung 35a (li.): TEWL-Werte bei 2 % NLS zu 4 h**



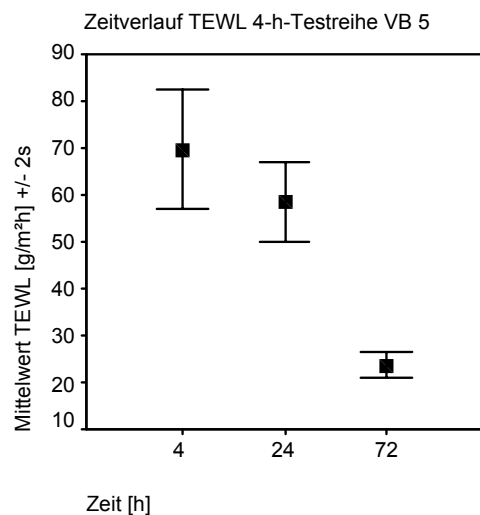
**Darstellung 35b (re.): TEWL-Werte bei 5 % NLS zu 4 h**

Die Werte für die 4-Stunden-Testreihe mit 5 % NLS liegen durchwegs auf einem höheren Wertenniveau und zeigen eine größere Streuung, verglichen mit der Testreihe 2 % NLS (siehe Darstellungen 35a-b).

Im Zeitverlauf (Darstellungen 36a-b) zeigt sich ein weitestgehend vergleichbares Werteverhalten der VB 1 und 5.



**Darstellung 36a (li.): Zeitverlauf der TEWL-Werte 4-h-Testreihe unter VB 1**



**Darstellung 36b (re.): Zeitverlauf der TEWL-Werte 4-h-Testreihe unter VB 5**

Die Hypothese  $H_{20}$  soll prüfen, ob durch eine VB der Teststellen vor Applikation des Provokationstests mit der VB 5 eindeutigere und deutlich vom bisherigen „Goldstandard“ (VB 1) abweichende Meßergebnisse feststellbar sind. Aufgrund obiger Ergebnisse muß die Hypothese  $H_{20}$  abgelehnt werden.

### **3.7.3 Verkürzung des NLS-Test auf 4 Stunden ( $H_{3_0}$ )**

Um bereits im 4-Stunden-Test repräsentative Meßwerte zu erhalten, und diesen als Standardtest etablieren zu können, wird dieser mit dem 24-Stunden-Test hinsichtlich der Mittelwerte und Standardabweichungen jeweils einfaktoriell für die Variable Zeit, sowie innerhalb der einzelnen Testvariablen verglichen. Die dreifaktoriell aufgeteilten Werte finden sich in den Tabellen 5 - 8.

Für den TEWL läßt sich eine sehr ähnliche Streuung der Mittelwerte anhand ihrer Standardabweichung bei der 4-Stunden- und 24-Stunden-Testreihe erkennen, so daß hier keine signifikanten Abweichungen vorliegen. Diese Streuung ist bei 72 Stunden sowohl bei einfaktorieller, als auch bei genauerer Betrachtung der einzelnen Variablen geringer ausgeprägt (siehe Darstellungen 18a-b).

Einfaktoriell zeigt die 4-Stunden-Testreihe geringere VS als die 24-Stunden-Testreihe (siehe Darstellungen 22a-b). Zur klinischen Veranschaulichung der Testreaktionen wird an dieser Stelle auf die Darstellungen 23a-c verwiesen.

Hinsichtlich des EI liegen bei einfaktorieller Auswertung die Mittelwerte der 4- und 24-Stunden-Testreihe zum ersten Meßzeitpunkt auf sehr ähnlichem Niveau. Zum zweiten Meßzeitpunkt zeigen sich in der 4-Stunden-Testreihe höhere EI. Die Standardabweichung ist in der 4-Stunden-Testreihe sowohl einfaktoriell, als auch bei detaillierter Auswertung generell geringer (siehe Darstellungen 28a-b).

Die HY präsentiert in der 4-Stunden-Testreihe sowohl einfaktoriell, als auch bei detaillierter Auswertung zum ersten Meßzeitpunkt höhere Werte als die 24-Stunden-Testreihe. Die Standardabweichung nimmt über alle Zeitpunkte in der 4-Stunden-Testreihe stets geringere Werte an.

Die Hypothese  $H_{3_0}$  geht davon aus, daß der 4-Stunden-Test aussagekräftige Testergebnisse liefert und zur Provokation einer klinisch relevanten irritativen Reaktion ausreichend ist. Die Hypothese  $H_{3_0}$  wird daher angenommen.

### **3.7.4 Notwendigkeit wiederholter TEWL-Messungen ( $H_{4_0}$ )**

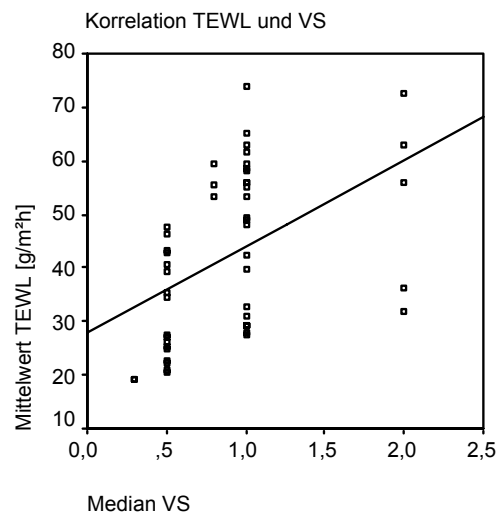
Als weiterführender Aspekt wird der Verlauf der Reaktionen verfolgt, um die Notwendigkeit wiederholter Messungen nach 24 bzw. 72 Stunden zu überprüfen. Nach

Testabnahme ist für beide Testreihen sowohl einfaktoriell für die Variable Zeit, innerhalb der einzelnen Variablen sowie dreifaktoriell betrachtet stets ein Abfall der TEWL-Werte zu beobachten, sowohl von 4 zu 24 Stunden, als auch von 24 zu 72 Stunden (siehe Darstellungen 18a-b, 20a-b, 36a-b; Tabelle 5). Es sind daher keine detaillierteren Informationen zur Reaktionsstärke oder abweichende Testergebnisse bei einer Nachmessung zu erwarten. Die Hypothese  $H_{4_0}$  setzt voraus, daß durch eine Nachmessung 24 bzw. 72 Stunden nach Testabnahme keine genaueren bzw. objektiveren Testergebnisse zu erzielen sind. Die Hypothese  $H_{4_0}$  wird daher bestätigt.

### 3.7.5 Korrelation TEWL und visueller Score ( $H_{5_0}$ )

Die Beziehung zwischen den TEWL-Werten und den Werten des VS wurde mit dem Spearman-Rho-Korrelationskoeffizient untersucht. Es finden sich für das Wertepaar sowohl einfaktoriell (siehe Darstellung 37), als auch innerhalb einzelner Variablen höchst signifikante Korrelationen (Tabelle 19).

Die Hypothese  $H_{5_0}$ , die eine Korrelation zwischen TEWL und VS vermutet, wird daher als richtig angenommen.

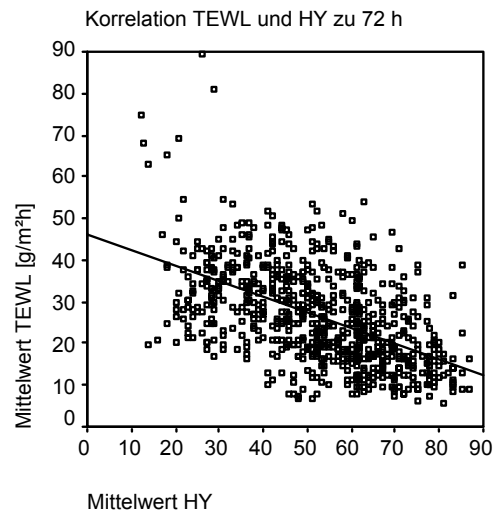


Darstellung 37: Korrelation TEWL und VS (einfaktoriell)

### 3.7.6 Korrelation TEWL und Hydration ( $H_{6_0}$ )

Die Betrachtung der Korrelation von TEWL und HY mit dem Pearson-Korrelationstest ergibt einfaktoriell eine höchst signifikante Korrelation.

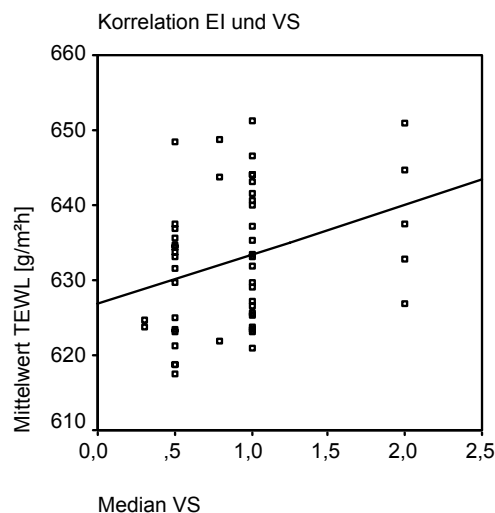
Bei alleiniger Auswertung der Variable Zeit zeigen sich ebenfalls für alle VB stets höchst signifikante Korrelationen. Auffällig ist aber, daß die Werte von TEWL und HY bei 72 Stunden immer deutlich negativ korrelieren (siehe Darstellung 38; Tabelle 20). Die Hypothese  $H_{60}$  legt zugrunde, daß kein Zusammenhang zwischen den Werten des TEWL und der HY besteht. Sie muß daher abgelehnt werden.



Darstellung 38: Korrelation TEWL und HY (Variable Zeit zu 72 h)

### 3.7.7 Korrelation Erythem-Index und visueller Score (H7<sub>0</sub>)

Der Zusammenhang zwischen EI und VS wurde mittels Spearman-Rho-Korrelationstest untersucht. Bei einfaktorieller Betrachtung findet sich eine signifikante Korrelation zwischen beiden Untersuchungsmethoden (Darstellung 39).



Darstellung 39: Korrelation EI und VS (einfaktoriell)

Betrachtet man die Mittelwerte der einzelnen Variablen, so zeigt sich sowohl bei der Variable Konzentration, als auch der VB kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem gemessenen EI und der visuellen Bewertung. Hingegen zeigt sich zu allen Zeitpunkten eine höchst signifikante Korrelation zwischen dem EI und dem VS (siehe Tabelle 21).

Die Hypothese  $H7_0$  legt einen Zusammenhang zwischen der Stärke des EI und dem VS zugrunde und wird demnach als richtig angenommen.

### 3.8 Spezielle Auswertung des 4-Stunden NLS-Test

Die 4-Stunden-Testreihe, d.h. es sind die Konzentrationen 2 und 5 % NLS über 4, 24 und 72 Stunden in die Betrachtung eingeschlossen, wurde durch weitere statistische Verfahren noch gesondert analysiert.

Hierzu wurde u.a. die dreifaktorielle Varianzanalyse mit Meßwiederholung auf der Variable Zeit herangezogen. Es finden sich bei allen Meßmethoden höchst signifikante Unterschiede zwischen 4, 24 und 72 Stunden. Besonders fällt auf, daß sich Konzentrationsunterschiede zwischen 2 und 5 % nur bei der TEWL-Messung in statistisch signifikanten Bereichen finden.

Im Hinblick auf die VB unterscheiden sich die Testergebnisse signifikant für den TEWL ( $p < 0,001$ ), die HY ( $p < 0,001$ ) und den VS ( $p < 0,05$ ).

Durch diese Varianzanalyse ist es auch möglich, Wechselwirkungen zwischen einzelnen Variablen näher zu beleuchten. Für Konzentration und VB existieren generell keine Wechselwirkungen. Es zeigen sich jedoch für die Variablen Konzentration und Zeit Wechselwirkungen für den TEWL und die HY ( $p < 0,001$ ). Die Variablen VB und Zeit unterliegen bei allen Meßmethoden stets höchst signifikanten Wechselwirkungen.

Eine weitere statistische Methode, den 4-Stunden-Test gesondert zu betrachten, bietet der Scheffé-Test. Mittels einer Matrix wird hierbei untersucht, ob signifikante Unterschiede innerhalb einer Variablen gemessen wurden, d.h. alle Variationsmöglichkeiten einer Variable werden jeweils miteinander verglichen.

Für den TEWL Wert stellt man hierbei höchst signifikante Unterschiede zwischen den Konzentrationen 2 und 5 % NLS fest. Hinsichtlich der VB zeigt sich ein signifikanter Unterschied zwischen VB 2 und 5 ( $p < 0,05$ ) sowie zwischen VB 3 und 5 ( $p < 0,01$ ). Ebenso zwischen den Meßzeitpunkten 4 und 24 bzw. 24 und 72 Stunden zeigen sich höchst signifikante Ergebnisunterschiede.

Bezüglich des VS treten signifikante Konzentrationsunterschiede zwischen 2 und 5 % NLS auf.

Für den EI liegt sowohl von 4 zu 24 und 72 Stunden, wie auch von 24 zu 72 Stunden ein signifikanter Ergebnisunterschied vor. Es finden sich aber weder signifikante Konzentrationsunterschiede, noch statistisch relevante Differenzen zwischen den verschiedenen VB.

Bei der HY zeigt sich jeweils ein höchst signifikanter Unterschied zwischen 4 und 72 bzw. 24 und 72 Stunden. Zwischen den VB 1 und 4, VB 1 und 5, VB 2 und 4, VB 2 und 5 und VB 3 und 5 zeigen sich höchst signifikante Unterschiede.



## **4 Diskussion**

### **4.1 Notwendigkeit der Basis-TEWL-Messung**

Die Aussagekraft des Basis-TEWL wird in der Literatur sehr unterschiedlich bewertet. Es gilt jedoch als gesichert, daß erhöhte Basiswerte auf eine erhöhte Empfindlichkeit gegenüber Detergenzien hinweisen können. Vor Testbeginn wird jeweils der Basis-TEWL des Probanden gemessen. Dies entspricht dem TEWL in Ruhe unter den in Kapitel 2.2.6 erläuterten Standardbedingungen. Diese Basiswerte können inter-individuell sehr unterschiedlich sein, sollten jedoch nach Daten von Lammintausta et al. (1987) am Rücken gesunder Personen im Intervall zwischen [2,6; 3,9] g/m<sup>2</sup>h beim Mann und [2,7; 4,0] g/m<sup>2</sup>h bei der Frau liegen (siehe auch Kapitel 1.5.1.3).

Die in vorliegender Studie erhobenen geschlechtsspezifischen Mittelwerte des Basis-TEWL für das Testareal (siehe Tabelle 10) liegen deutlich über denen anderer Studien (Nilsson, 1977b; Lammintausta et al., 1987; Goh et al., 1988). Diese Divergenz steht vermutlich in Zusammenhang mit einer höheren rh im Testraum bei oben genannten Studien. Wie in Kapitel 1.5.2.2 beschrieben, sinkt bei einer rh über 50 % der TEWL, da durch die erhöhte rh der umgebende Wasserdruck steigt und der Druckunterschied zwischen Umgebung und Haut geringer wird. Dies verringert wiederum die passive Diffusion und führt zu niedrigeren Meßwerten des TEWL (Grice et al., 1972; Grice, 1980). Im Gegensatz dazu wurde in der vorliegenden Untersuchungsreihe die rh gemäß den Empfehlungen der ESCD durch eine Klimaanlage im Testraum bei ca. 40 % konstant gehalten.

Der in der Literatur (Murahata et al., 1986; Tupker et al., 1989; Tupker et al., 1990a; Agner, 1991a, 1991b, 1991c) aufgezeigte Zusammenhang zwischen erhöhtem Basis-TEWL und erhöhtem TEWL nach NLS-Exposition (siehe Kapitel 1.3.1.1) kann in der vorliegenden Arbeit aufgrund der geringen Zahl an Probanden mit erhöhten Basiswerten statistisch nicht ausgewertet werden. Auch die Notwendigkeit von Messungen des Basis-TEWL kann daher nicht ausreichend beurteilt werden.

### **4.2 Anwendung verschiedener Vorbehandlungen**

Durch die Anwendung der verschiedenen VB soll untersucht werden, ob der NLS-Test hierdurch verkürz-, standardisier-, objektivierbar und aussagekräftiger wird. Wir vermuten, daß das Irritants, mittels der in vorliegender Studie angewandten Techniken der mechanischen Schädigung der Hautbarriere, besser und schneller in die

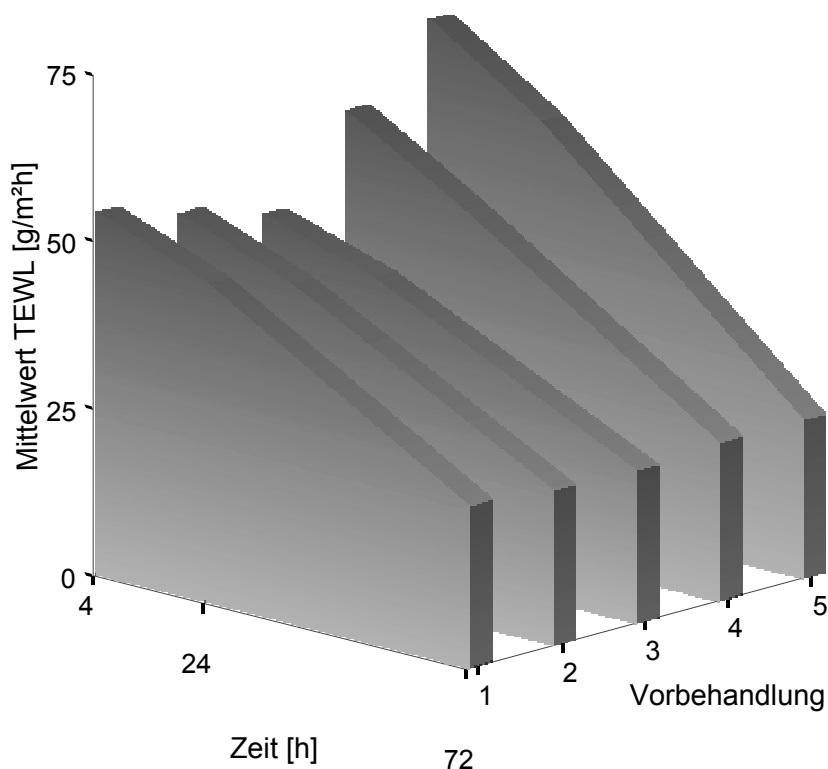
Epidermis eindringt und durch sie penetriert und so der Test verkürzt werden kann. Den VB 1 - 5 liegen verschiedenartige Hautverletzungen zugrunde. Die für die Interpretation nötigen mikroskopischen bzw. makroskopischen Beschreibungen der jeweiligen Läsion sind bereits in Kapitel 2.2.3 aufgezeigt.

Die etablierte und bewährte Methode der Applikation von Provokationstests ohne VB, dies entspricht der VB 1 in vorliegender Studie, gilt als „Goldstandard“. Die verschiedenen VB 2 - 5 werden jeweils mit dem „Goldstandard“ verglichen und bewertet. Eine VB gilt dann als besser geeignet als der Goldstandard (VB 1), wenn sie ebenso eindeutig meßbare, also signifikant vom Basiswert abgrenzbare Werte nach NLS-Testung liefert, ein stabiles Wertenniveau vorliegt, eine geringe Streuung aufweist und visuell eindeutige Reaktionen erfassbar sind. Desweiteren muß eine signifikante Trennung der Testergebnisse zwischen den verschiedenen Konzentrationen vorliegen.

#### 4.2.1 Vorbehandlungen aus Sicht des TEWL

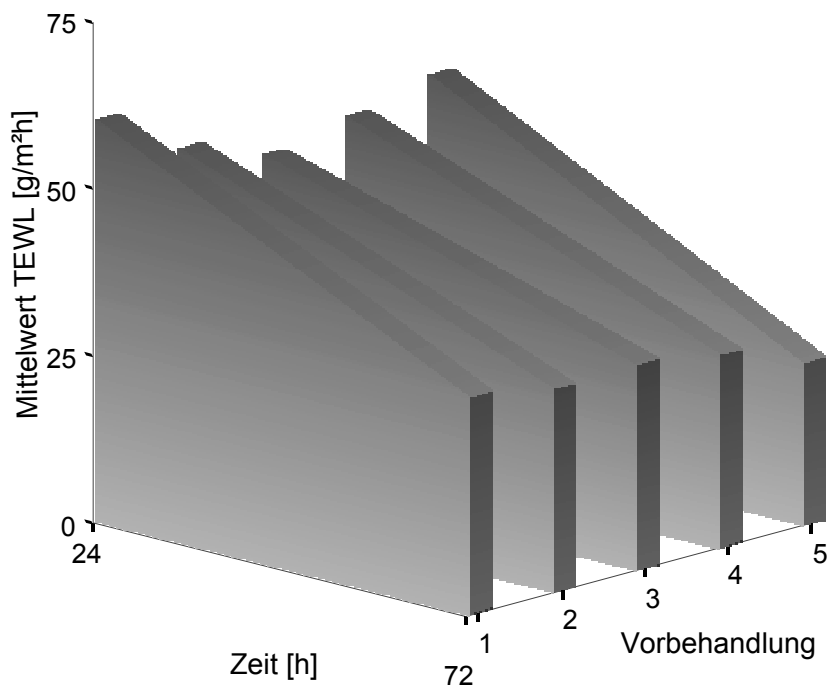
Zur Übersicht nachfolgend diskutierter Sachverhalte siehe Darstellungen 40a-b.

Zeitverlauf der TEWL-Werte der 4-h-Testreihe unter VB 1 - 5



Darstellung 40a: Zeitverläufe des TEWL der 4-h-Testreihe verschiedener VB

## Zeitverlauf der TEWL-Werte 24-h-Testreihe unter VB 1 - 5



Darstellung 40b: Zeitverläufe des TEWL der 24-h-Testreihe verschiedener VB

Zwischen VB 1 und 2 zeigen sich generell keine signifikanten Unterschiede im Reaktionsverhalten. Durch den Prick bei VB 2 wird die Epidermis in die Tiefe gedrückt und es resultiert eine mit dem bloßen Auge kaum sichtbare Verletzung der Dermis, die sich eventuell in einer leichten Blutung äußert. Die hier entstandene Barrierschädigung verschließt sich sofort nach Entfernung der Lanzette wieder, so daß sie insgesamt zu keiner signifikanten Veränderung der Hautreaktion beim NLS-Test führt. Es gelangt jedoch, wenn überhaupt, eine sehr geringe Menge des NLS in tiefere Schichten und man kann davon ausgehen, daß das NLS nahezu ausschließlich klassisch über das Stratum corneum und die Epidermis wirkt. Die bei VB 2 tendenziell verringerte Reaktionsstärke im Vergleich zu VB 1 ist also durch die geringfügig geringere Menge NLS an der Hautoberfläche erklärbar (siehe Darstellungen 21a-b). Die VB 2 unterscheidet sich somit methodisch nur geringfügig von VB 1.

Die größten TEWL-Differenzen treten zwischen VB 1 und 3 auf. Bei VB 3 entsteht durch den Teststempel eine minimale Verletzung der Hautbarriere, wobei auch hier die Stichkanäle direkt nach Entfernung des Teststempels wieder verschlossen werden. Es dringt hier ebenfalls, ähnlich wie bei VB 2, nur ein sehr geringer Teil des NLS über die

vier feinen Stichkanäle des Teststempels direkt ins Korium ein und so wirkt auch hier das NLS hauptsächlich über epidermale Strukturen. Da es sich jedoch um vier Stichkanäle im Gegensatz zu VB 2 handelt, ist folglich die NLS-Menge an der Oberfläche der Epidermis vierfach geringer als bei VB 2, was wiederum die niedrigeren Werte der VB 3 im Vergleich zu VB 2 erklärt.

Die Reaktionsunterschiede zwischen VB 1 und den VB 4 und 5 liegen vor allem in der Tiefe und Schwere der Hautverletzung begründet. Bei den VB 4 und 5 wird die gesamte Epidermis und ihre Reteleisten durch den Scratch (VB 4) bzw. die Inzision (VB 5) unterbrochen und der Papillarkörper der Dermis eröffnet. NLS kann somit direkt in alle epidermalen bzw. dermalen Schichten und Strukturen gelangen. Über welche Strukturen dann letztlich eine irritative Reaktion ausgelöst wird, bleibt unklar. Im Gegensatz zu den VB 2 und 3 verschließt sich die Barrierschädigung nicht sofort wieder, sondern führt durch die Eröffnung tieferer Strukturen bereits primär zu einem erhöhten TEWL (siehe auch Kapitel 3.3).

Durch den Scratch bei VB 4 wird die Haut eingerissen, wohingegen bei VB 5, der standardisierten Inzision mit dem Skalpell, die Haut in eine definierte Tiefe von 0,2 mm inzidiert wird. Im Bereich der oberen Rückenpartie liegt dies, bei einer durchschnittlichen Dicke der Epidermis von 0,043 mm (Whitton et al., 1973), inmitten des Korium.

Appliziert man nun NLS auf die mittels VB 2, 3, 4 oder 5 behandelten Teststellen, so dringt dies durch die Verletzung der Epidermis in Form eines Stiches, Risses oder Schnittes und bedingt durch Kapillarkwirkung direkt in tiefere Hautschichten ein. Der charakteristische Reaktionsmechanismus, die Penetration durch die Epidermis und die Interaktion des NLS mit deren Strukturen, welche pathogenetisch maßgeblich für die irritative Reaktion verantwortlich ist, findet dagegen wenn überhaupt, in vermindertem Umfang, verglichen mit VB 1, statt. Dies mag daran liegen, daß das Irritans in den artifiziell verletzten Arealen der Hautoberfläche direkt ins Korium bzw. die Dermis eindringt und dadurch die über die Hautoberfläche bzw. Epidermis wirkende Menge des NLS deutlich geringer ist als bei VB 1. Folglich sind so die geringeren Reaktionen bei den VB 2, 3, 4 und 5, wie auch die niedrigeren VS nach mechanischer Vorschädigung der Hautbarriere zu erklären. Denn, wie bereits in Kapitel 1.2.5.6 beschrieben, ist die Menge des NLS pro mm<sup>2</sup> Haut (Magnusson et al., 1965; Frosch et al., 1979a) bzw. die Dosis des NLS (Serup et al., 1987; Wilhelm et al., 1989; Agner et al., 1990c; Nassif et al., 1994; Ollmar et al., 1994) für die Reaktion bzw. die

Reaktionsstärke maßgeblich. Dies kann anhand der durch vorliegende Studie neu gewonnenen Daten und Erkenntnisse bestätigt werden.

Die signifikanten Unterschiede zwischen VB 2 und 5, sowie VB 3 und 5 im Scheffé-Test (Kapitel 3.8) erklären sich durch diese unterschiedliche Barrierschädigung und den divergenten Reaktionsmechanismus.

Die erhöhten Testwerte des TEWL bei VB 5 im Vergleich zu VB 1 sind v.a. durch die Barrierschädigung mittels Inzision und den hierdurch resultierenden Wasserverlust bedingt. Wie eine Sondertestung zeigt, ist nach einer Inzision mittels VB 5 der TEWL auch unter Testung mit aqua dest. erhöht (Tabelle 23, 24). Die Testwerte bei VB 5 mit aqua dest. bzw. NLS unterscheiden sich dennoch signifikant. Dies spricht dafür, daß nach Applikation von NLS gleichwohl eine erfaßbare irritative Reaktion ausgelöst wird. Insgesamt ist also bei VB 5 eine geringere Reaktion auf das Irritans zu erwarten und die im Vergleich zu VB 1 erhöhten TEWL-Werte vermutlich durch die vorherige Inzision mitbedingt. Welche Vorgänge den VB 4 und 5 zugrunde liegen, kann durch die vorliegende Studie nicht abschließend geklärt werden und es bedarf an dieser Stelle weiterführender Untersuchungen, diesen Penetrations- und Reaktionsmechanismus immunhistochemisch zu untersuchen.

Die Testwerte unter VB der vorliegenden Studie sind somit nicht vergleichbar mit anderen TEWL-Werten und eine Aussage hinsichtlich der tatsächlichen Reaktionsstärke im Vergleich mit VB 1 daher nur bedingt möglich.

Für die erhöhten Testwerte unter VB 5 sind ebenso die in der Literatur beschriebenen immunologischen Vorgänge maßgeblich, die eine inflammatorische Reaktion auf eine Verletzung der Hautbarriere zeigen. Bereits nur durch eine mechanische Manipulation der Epidermis kann die Produktion von Zytokinen, wie TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-1ra, TGF- $\beta$ , IFN- $\gamma$ , ICAM-1 und GM-CSF stimuliert werden (Enk et al., 1992; Haas et al., 1992; Wood et al., 1992; Kondo et al., 1994; Nickoloff et al., 1994; Shivji et al., 1994; Wilmer et al., 1994; Wood et al., 1994a; Wood et al., 1994b; Denda et al., 1995; Lisby et al., 1995; Webb et al., 1998; Effendy et al., 2000). Es ist also davon auszugehen, daß die Reaktion bei den VB 4 und 5 vor allem durch die Zytokinwirkung in der tiefen Epidermis bzw. Dermis erfolgt. Daher ist die irritative Reaktion auch visuell nicht so gut erfaß- und beurteilbar und folglich die VS, insbesondere bei vorbehandelten Teststellen mit VB 4 und 5, niedriger als ohne VB.

Die im Vergleich zu VB 1 stets erhöhten TEWL-Werte bei VB 4 und 5 zum ersten Meßzeitpunkt nach Testentfernung können also durch die entsprechende

Barriereschädigung der Epidermis erklärt werden, die auch ohne Applikation von Irritantien bereits zur Erhöhung des TEWL führt. Hingegen tritt zum zweiten Meßzeitpunkt die irritative und inflammatorische Wirkung des Irritants in den Vordergrund tritt. Da sich die Unterschiede zwischen den genannten VB zum zweiten Meßzeitpunkt als nicht mehr signifikant darstellen und die Werte bei 72 Stunden sogar vergleichsweise erniedrigt sind, kann man davon ausgehen, daß die VB 1 zuverlässigere Testergebnisse im Sinne der IKD liefert. Weiterhin muß man annehmen, daß nur bei VB 1 der eigentliche Reaktionsmechanismus (siehe Kapitel 1.2.5.4 bis 1.2.5.5) ungehindert stattfindet.

Wie die Darstellung 40a für die 4-Stunden-Testreihe verdeutlicht, bleiben die TEWL-Werte der VB 1 - 3 während des Testverlaufes zwischen 4 und 24 Stunden auf einem gewissen Plateau und sind erst zu 72 Stunden hin rückläufig, nicht jedoch die Testergebnisse der VB 4 und 5; diese fallen nach Testabnahme von 4 zu 72 Stunden kontinuierlich ab. Somit läßt der Zeitverlauf des TEWL eine Gruppierung zwischen den VB 1 - 3 und VB 4 - 5 erkennen.

Die Standardabweichungen der TEWL-Werte der VB 1 und 5 unterscheiden sich bei detaillierter Betrachtung, wobei diese bei VB 5 stets geringer ist. Die beiden VB sind somit bezüglich ihrer Streuung nicht vergleichbar (siehe Kapitel 3.6.1.4). Da jedoch die Testergebnisse keine grundsätzlichen Unterschiede aufzeigen kann dennoch davon ausgegangen werden, daß es sich hier um ein ähnliches Reaktionsspektrum handelt, der Reaktionsmechanismus allerdings gemäß bisheriger Beschreibungen stark variiert, was in den Darstellungen 40a-b deutlich sichtbar wird (VB 1 - 3 im Gegensatz zu VB 4 und 5 im Zeitverlauf).

Die geringere Streuung der TEWL-Werte und die geringe statistische Spannweite bei VB 3 könnte auf eine höhere Standardisierung dieser Methode hinweisen.

Die auffällige Häufung signifikanter Unterschiede bei einer Konzentration von 1 % NLS zum Zeitpunkt 24 Stunden im Vergleich der VB 1 und 3, VB 1 und 4 sowie VB 1 und 5 könnte an den in dieser Zeit-Konzentrations-Konstellation deutlich erhöhten Werten bei VB 1 liegen. Dies erklärt sich vermutlich dadurch, daß bei einem nicht beeinträchtigten Mechanismus, also ohne jegliche VB, aufgrund des klassischen Interaktionsmusters die höchsten Testwerte auftreten. Im Gegenzug spräche dies grundsätzlich gegen die Anwendung von VB.

In der 4-Stunden-Testreihe unterscheiden sich die TEWL-Werte der VB 1 und 5 sowohl bei 2 als auch 5 % NLS. Da sich dies bei 24 und 72 Stunden nicht signifikant darstellt basiert vermutlich darauf, daß der bereits einsetzende Heilungsprozeß die Hautbarriere langsam regeneriert und die Werte deshalb rückläufig sind.

Es fällt auch auf, daß sich im Konzentrationsvergleich zwischen 2 und 5 % NLS der 4-Stunden-Testreihe bei den VB 4 und 5 keine signifikanten Unterschiede feststellen lassen. Eine eindeutige Trennung zwischen den verschiedenen Konzentrationen ist somit nicht ersichtlich und bestätigt wiederum die These, daß die Anwendung einer VB keine eindeutigeren bzw. besseren Ergebnisse im Vergleich zum „Goldstandard“ liefert.

#### **4.2.2 Vorbehandlungen aus Sicht des visuellen Score**

Das Auftreten der höchsten VS bei VB 1 ist auf die mit den epidermalen Strukturen stattfindende Interaktion zurückzuführen, die im eigentlichen Sinne für die Entstehung des klinischen Bildes einer IKD und somit der visuell zu bewertenden klinischen Reaktion verantwortlich ist (Frosch et al., 1996a). Es kommen hier die in Kapitel 1.2.5.3 bis 1.2.5.5 beschriebenen immunologischen Mechanismen zum Tragen (siehe auch Darstellung 3). Durch diese Interaktion kommt es beispielsweise zu einer Aktivierung von Th1- und Th2-Helferzellen, einer Aktivierung der Keratinozyten und einer vermehrten Ausschüttung verschiedenster epidermaler und dermalen Zytokine, wie beispielsweise TNF $\alpha$ , GM-CSF, IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-6, IL-8, IL-10 (Lindberg et al., 1991; Willis et al., 1991; Brand et al., 1993; Kondo et al., 1994; Wilmer et al., 1994; von den Driesch et al., 1995; Brand et al., 1996; William et al., 1996; Tupker et al., 1997; Effendy et al., 2000). Diese Kaskaden ziehen wiederum eine irritative bzw. inflammatorische Reaktion nach sich, die dann visuell sichtbar wird.

Durch minimale Läsionen der Epidermis gelangt NLS unter Umgehung der Epidermis direkt in tiefere Hautschichten und umgeht den für irritative Reaktionen entscheidenden Mechanismus (siehe auch Kapitel 4.2.1). Inwiefern dies jedoch die immunologischen und inflammatorischen Reaktionskaskaden beeinträchtigt ist unklar und kann im Rahmen der vorliegenden Studie nicht geklärt werden. Insgesamt läßt sich aber sagen, daß bei den VB 4 und 5 durch die geringere Menge des die Epidermis penetrierenden NLS geringere Reaktionen ausgelöst werden, was v.a. bei visueller Bewertung deutlich wird und die niedrigen VS bei diesen VB erklärt.

Man nimmt desweiteren an, daß die irritative Reaktion auf NLS zum Teil auch von den Schichten unterhalb des Stratum corneum abhängig ist (Tupker et al., 1997). Reaktionen in der tieferen Dermis sind aber nicht zwangsläufig visuell an der Hautoberfläche zu erfassen, was ebenso die niedrigen VS bei VB 4 und 5 erklären würde.

Da die Invasivität von VB 2 nach 5 zunimmt und somit auch die Unterschiede der VB 2 - 5 gegenüber der reinen Applikation (VB 1), ist im Gegenzug der kontinuierliche Abfall der VS von VB 1 bis 5 erklärbar.

Die VB 2 und 3 unterscheiden sich trotz ihrer Invasivität insofern von den VB 4 und 5, daß zwar durch den Einstich der Lanzette (VB 2) bzw. des Stempels (VB 3) eine gewisse, vermutlich äußerst geringe Menge NLS direkt in tiefere Epidermisschichten gelangt, sich die Verletzungen jedoch sofort wieder verschließen und das restliche NLS dann in klassischer Weise über das Stratum corneum wirkt.

In der 4-Stunden-Testreihe treten die niedrigsten VS bei VB 3 auf. Die Hautverletzung induziert bei den VB 4 und 5 ein Erythem, welches mit in die visuelle Bewertung einfließt und keine Differenzierung zu einer irritativen Reaktion zuläßt. Im Gegenzug sollten die höheren VS der VB 4 und 5 zum Zeitpunkt 4 Stunden daher vorsichtig interpretiert werden.

Höchstwahrscheinlich sind also sowohl der Grad der Invasivität als auch die Verschiedenheit der Methode, sowie der Reaktionsmechanismus bei VB 4 und 5 im Vergleich zu den VB 1 - 3 dafür verantwortlich, daß die VS der VB 1 - 3 ihr Maximum meist erst zum zweiten Ablesezeitpunkt, die der VB 4 und 5 dagegen meist bereits beim ersten Ablesezeitpunkt erreichen.

Die von Dahl et al. (1977) beschriebene verzögerte Reaktion für den VS kann durch die bei den VB 1 - 3 oftmals auftretende Zunahme der Reaktion von 4 nach 24 Stunden bestätigt werden. Der verzögerte Anstieg des VS bei den VB 1 - 3 weist auf die Ähnlichkeit dieser drei Testarten hin die sich, zumindest bezogen auf den VS, somit deutlich von den VB 4 und 5 abgrenzen lassen. Dies legt nahe, daß sich hier der irritative Reaktionsmechanismus grundlegend unterscheidet. Die Reaktion zum Zeitpunkt 4 Stunden ist vermutlich, wegen der in der Kürze der Zeit noch nicht vollständig aktivierten Immunantwort geringer ausgeprägt. Die Keratinozyten müssen erst aktiviert, die Zytokine sezerniert werden und ihre Wirkung entfalten. Die Zeit von 4 Stunden ist daher womöglich zu kurz gewählt, aussagekräftige VS zu erzielen.



Zusammenfassend kann auch hier eine klare Trennung zwischen den VB 1 - 3 und VB 4 und 5 aufgezeigt werden.

Die Testergebnisse des VS und des TEWL bei den VB 4 und 5 lassen nach unseren Erkenntnissen zwar eine Aussage zu irritativen Reaktionen zu, es sind jedoch keine eindeutigeren Testergebnisse zu erwarten.

#### **4.2.3 Vorbehandlungen aus Sicht des Erythem-Index**

Das im Normalfall nach NLS-Testung resultierende sichtbare Erythem (van der Valk et al., 1984), das teilweise in die visuelle Bewertung einfließt, ist subjektiv v.a. bei den VB 4 und 5 selbst bei starken Reaktionen nicht oder nur sehr schwach ausgeprägt. Desweiteren zeigen sich beim EI in Bezug auf den Zeitverlauf wiederum zwei verschiedene Gruppierungen. Bei allen VB steigen die Werte vom ersten zum zweiten Meßzeitpunkt an. Bei den VB 4 - 5 fällt dieser Anstieg jedoch deutlich größerer aus als bei den VB 1 - 3. Beide Beobachtungen sind ebenfalls dadurch erklärbar, daß sich der Reaktionsmechanismus der VB 4 und 5 von dem der restlichen VB unterscheidet. Die Trennung der VB und ihrer Testreaktionen in zwei Gruppen bestätigt sich abermals.

Die deutliche Korrelation des EI mit dem VS ist kausal bedingt, da die subjektive visuelle Bewertung in starkem Maße auch vom Erythem (siehe auch Darstellung 14) und der inflammatorischen Komponente der Testreaktion abhängt. Desweiteren ist der EI von anderen Faktoren, wie Hauttyp, Hautdurchblutung und Bräunungszustand beeinflusst und daher nur bedingt aussagekräftig zur Bewertung einer irritativen Testreaktion.

Die deutlich höchsten EI sind unter VB 1 zu verzeichnen. Durch den hier intakten Ablauf der irritativen Reaktionskaskade, u.a. der Aktivierung der Keratinozyten und der Ausschüttung inflammatorischer Zytokine, wird die Durchblutung im Bereich der einzelnen Teststellen erhöht und es resultiert ein erhöhter EI.

#### **4.2.4 Vorbehandlungen aus Sicht der Hydration**

Bei der Messung der HY zeigen sich zwischen den VB 1 und 2 bzw. 3 weitestgehend keine statistisch relevante Unterschiede. Allerdings sind Signifikanzen zwischen VB 1 und 4 sowie VB 1 und 5 zu erwähnen, die nochmals die Gruppierung der VB mit den divergenten Reaktionsmustern unterstreichen.

In der 4-Stunden-Testreihe treten zum Zeitpunkt 72 Stunden keinerlei Signifikanzen auf. Dies ist auf die generelle Erniedrigung der Hydrationswerte zum dritten Meßzeitpunkt zurückzuführen, die durch die Austrocknung nach stark irritativen Reaktionen zustande kommen.

#### **4.2.5 Übergreifende Diskussion verschiedener Vorbehandlungen**

Die VB 1, als bisherige Methode der Wahl, zeigt eine eindeutige Erhöhung der TEWL-Werte nach Testung im Vergleich zu den Basiswerten und weist im Vergleich zu VB 5 ein sehr ähnliches Reaktionsspektrum auf. Die Streuung ist hingegen bei VB 5 stets geringer als bei VB 1. Desweiteren legt die bei allen vier Untersuchungsmethoden auftretende deutliche Trennung der VB in VB 1 - 3 und VB 4 - 5 nahe, daß bei VB 4 und 5 nicht die für die IKD typischen Mechanismen zum Tragen kommen. Durch VB könnte sogar die Aussagekraft des Tests hinsichtlich der IKD in Frage gestellt sein, da die Einflüsse der Barrierschädigung letztlich nicht genau abschätzbar sind. Die bereits durch die Schädigung der Hautbarriere erhöhten TEWL-Werte bei den VB 4 und 5, liefern keine zuverlässigeren, aussagekräftigeren oder standardisierteren Testergebnisse hinsichtlich der individuellen Hautempfindlichkeit. Die Meßwerte nach VB lassen zudem keine Vergleiche zu TEWL-Werten bzw. dem Testverhalten anderer Untersuchungen zu und mindern somit die Vergleichbarkeit des Meßparameters. Die Anwendung von VB, insbesondere der VB 5, ist somit nicht gerechtfertigt.

Alternativ kann noch über die Anwendung von VB 3, des Prick-Tests mit Teststempel, nachgedacht werden. Diese VB ruft geringe, aber deutlich vom Basiswert abgrenzbare Reaktionen hervor. Da die VB 3 eine sehr geringe Spannweite und Streuung zeigt, liefert sie in Hinblick auf den TEWL sehr zuverlässige Ergebnisse. Betrachtet man jedoch den VS, so zeigen sich hier nicht immer eindeutige Testergebnisse. Bei Messung des EI treten bei VB 3 die geringsten Indizes aller VB auf. Hinsichtlich der HY lägen keine Gründe vor, die gegen die Anwendung der VB 3 sprächen. Zusammenfassend liefert sie aber keine eindeutigeren klinischen Befunde, verglichen mit VB 1. Die VB 3 ist daher schließlich ebenfalls abzulehnen, da der erhöhte Testaufwand und die zusätzliche Belastung der Patienten nicht zu rechtfertigen ist.

### 4.3 4-Stunden NLS-Test

Primäres Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, den bisher im klinischen Alltag üblicherweise angewandten 24-stündigen Irritationstest zu verkürzen. Um die Möglichkeiten einer Verkürzung zu evaluieren werden verschiedene Variablen herangezogen und variiert.

Die Studie betrachtet kritisch die Anwendung der einzelnen hautphysiologischen Meßverfahren und verfolgt desweiteren die Intention, ein geeignetes, aussagekräftiges klinisches Scoring vorzuschlagen. Diverse Meßmethoden, TEWL, EI, HY sowie die visuelle Beurteilung werden zur Bewertung der Testergebnisse herangezogen und auf ihre klinische Aussagekraft hin überprüft.

In der Literatur (Basketter et al., 1994; York et al., 1995; Basketter et al., 1996a; Le et al., 1996; Loden et al., 1996; Basketter et al., 1997a; Basketter et al., 1997b; Robinson et al., 1998; Aramaki et al., 2001a; Aramaki et al., 2001b) sind bereits diverse Untersuchungen veröffentlicht, die eine kürzere Applikationszeit des irritativen Provokationstest anwenden. Die Applikationsdauer variiert hierbei zwischen 1 und 7 Stunden. Die Hauptintention dieser Studien lag jedoch nicht in der Evaluation einer etwaigen Verkürzung der Testdauer für Irritationstests. Sie liefern daher keine einheitlichen Protokolle oder exemplarisch vergleichbare Testergebnisse.

Sowohl die Werte des TEWL wie auch der HY erreichen ihren maximalen Wert direkt nach Testabnahme und fallen hiernach wieder ab. Hingegen stellt man beim VS und dem EI verzögerte Reaktionen fest. Für den TEWL sind in der Literatur (Dahl et al., 1977; Bruynzeel et al., 1982; Agner et al., 1989b; Tupker et al., 1990b; Frosch et al., 1996a) ebenfalls solche Crescendo-Reaktionen beschrieben (siehe Kapitel 1.2.5.6), die durch die Fortsetzung der Penetration des NLS nach Testabnahme bedingt sind (Fullerton et al., 1994). Diese Reaktionen können jedoch anhand vorliegender Studienergebnisse nicht bestätigt werden. Dies könnte möglicherweise auf die 30-minütige Ruhephase vor den Messungen und die Anwendung der in Kapitel 2.2.6 beschriebenen, speziell angefertigten Meßkammer, zurückzuführen sein. Eine kürzlich veröffentlichte Studie von Aramaki et al. (2001b) liefert allerdings begründete Hinweise darauf, daß eine Ruhephase von 30 Minuten nach Abnahme der Testpflaster selbst unter Standardbedingungen (siehe Kapitel 2.2.6) nicht ausreichend ist, die Restfeuchtigkeit, die sich unter den Testkammern gebildet hat, zu verdunsten. Bedingt durch den Okklusionseffekt ist vermutlich noch Feuchtigkeit im Stratum corneum gespeichert, welche zu falsch erhöhten TEWL-Werten führt. Nach Agner et al. (1993) ist ein stabiles Plateau der Meßwerte frühestens etwa 60 Minuten nach Testabnahme

erreicht. In der Literatur (Agner et al., 1993; Aramaki et al., 2001b) finden sich Forderungen nach einem verlängerten Intervall von 24 Stunden zwischen Testabnahme und Messung, um ein stabiles Werteplateau zu erreichen.

Je höher die NLS-Konzentration, desto länger dauert es, bis ein stabiles Wertenniveau erreicht ist. Diese neuen Erkenntnisse könnten für die vorliegende Arbeit bedeuten, daß die Meßwerte des TEWL nicht der tatsächlichen Hautbarriere-Funktion entsprechen, sondern sich auf tendenziell erhöhtem Niveau befinden.

Der auffällig starke Rückgang der TEWL-Mittelwerte als auch deren Standardabweichung zum Zeitpunkt 72 Stunden ist möglicherweise auf einen bereits einsetzenden Heilungsprozeß und die vollständige Abdampfung der Restfeuchte zurückzuführen.

Die Relevanz einer kürzlich publizierten Studie von Aramaki et al. (2001a), die die Aussagekraft des TEWL bei NLS-Konzentrationen über 0,5 % NLS einschränkt, ist durch vorliegende Ergebnisse nicht beurteilbar, da in vorliegender Arbeit die dort vorgeschlagene LD nicht zur Anwendung kam.

Für den VS sind ebenfalls verzögerte Reaktionen mit einer Latenz von 2 Stunden bis Tagen nach Testung beschrieben (Dahl et al., 1977) und können durch unsere Testergebnisse bestätigt werden. Nach Dahl et al. (1977) steigt die Reaktionsstärke nach Testabnahme an und bleibt für mindestens 48 Stunden an Intensität bestehen, bevor es zum kontinuierlichen Abfall des VS kommt. Dies trifft jedoch nur für die VB 1 - 3 zu. Bei den VB 4 und 5 setzt der Abfall des VS gleich nach Testabnahme ein.

Der verzögerte Anstieg des EI liegt wohl darin begründet, daß die in Kapitel 1.2.5.4 erläuterten immunologischen Vorgänge erst angestoßen werden müssen und deren klinische Manifestation zeitverzögert auftritt. Dadurch ist die Hautdurchblutung, als Meßsubstrat des EI und die damit in Zusammenhang stehenden inflammatorischen Reaktionsmechanismen vermutlich nach 4 Stunden noch nicht vollständig aktiviert, was in niedrigeren EI zum Ausdruck kommt. Dementsprechend erreichen die EI ihr Maximum je nach VB erst nach 24 oder 72 Stunden. Dasselbe Prinzip gilt somit auch für den VS, da dessen Scoring zum Teil auf dem Erythem der Haut basiert bzw. mit in die Bewertung einfließt. Man kann also auch im Zeitverlauf sowohl für den EI, als auch den VS eine deutliche Trennung zwischen den VB 1 - 3 und VB 4 - 5 erkennen.

Bekanntermaßen kann die HY, je nach Stärke der abgelaufenen irritativen Reaktion, vorerst ansteigen bevor dann der Wassergehalt des Stratum coreum abnimmt (Wilhelm et al., 1994). Die vorliegenden Untersuchungsergebnisse bestätigen die von

Froebe et al. (1990) beschriebene Hyperhydration nach NLS-Testung. Nach einem kurzfristigen Anstieg der Hydrationswerte folgt dann aber ein signifikanter Rückgang der Meßwerte bis unterhalb des Basiswertes. Dieser Rückgang ist vermutlich auf die durch die irritative Reaktion bedingte Austrocknung der Epidermis zurückzuführen (siehe Kapitel 1.2.5.3). Offen bleibt, ob die erhöhten Hydrationswerte zum Zeitpunkt 4 Stunden nicht durch die bedingte Restfeuchtigkeit der Haut bei zu kurz gewähltem Intervall zwischen Testabnahme und Messung mitbedingt sind.

Fraglich bleibt auch, was dem imitierten Bild der IKD durch den NLS-Test mehr entspricht: Die akute inflammatorische Erscheinung mit hohen Hydrationswerten, hohem TEWL und erhöhtem EI oder die nachfolgende Austrocknung der Epidermis.

Durch den stetigen Abfall der TEWL-Werte im Zeitverlauf (siehe Kapitel 3.6.1.2), bestätigt durch Ergebnisse von Aramaki et al. (2001b) sind die von Löffler et al. (1997) geforderten Nachmessungen der Teststellen nach 24 bzw. 72 Stunden nochmals zu überprüfen. Wiederholte TEWL-Messungen sind zur Verlaufsbeobachtung einer irritativen Reaktion, sowie zur Beurteilung der Hautregeneration nach Irritationstestung hilfreich. Es ergeben sich aber keine genaueren bzw. objektiveren Erkenntnisse hinsichtlich der Hautempfindlichkeit von Probanden.

Aufgrund des heterogenen Verhaltens des VS hinsichtlich verzögerter Reaktionen (siehe Kapitel 3.6.2.1) ist allerdings, im Gegensatz zu den TEWL-Messungen, eine zusätzliche Bewertung 24 Stunden nach Abnahme des Irritationstests erforderlich.

Auch beim EI kann aufgrund der verzögerten Reaktionen nicht auf eine Nachmessung verzichtet werden.

Nachmessungen der HY sind in Hinblick auf den Grad der Austrocknung der Haut und somit zur Beurteilung der entstandenen Barrierschädigung ebenfalls sinnvoll, besonders zum Zeitpunkt 72 Stunden, da sich hier die niedrigsten Hydrationswerte zeigen.

Die Ergebnisse des VS und des EI zeigen eine positive Korrelation, was v.a. bei Betrachtung der zeitlichen Komponente deutlich wird. Dies bedeutet, daß die verschiedenen Konzentrationen und VB vermutlich keinen Einfluß auf diesen Zusammenhang haben. Die Korrelation der beiden Auswertungskriterien ist dadurch erklärbar, daß das Hauterythem nicht unwesentlich in die visuelle Bewertung einfließt.

Aufgrund dieses Kausalzusammenhangs zeigt ein hoher EI mit großer Wahrscheinlichkeit auch einen erhöhten VS.

Betrachtet man die Korrelation zwischen den TEWL-Werten und der HY zeigt sich zum Zeitpunkt 72 Stunden ein deutlich negativer Zusammenhang. D.h., im Verlauf der Reaktion auf NLS ist die HY umso niedriger, je höher die TEWL-Werte liegen. Dies entspricht auch unseren subjektiven Erfahrungswerten. Dieser negative Zusammenhang ist wahrscheinlich durch die starke Austrocknung der Teststellen einer zuvor stattgefundenen irritativen Reaktionen, d.h. im vorliegenden Fall hohen TEWL-Werten, bedingt. Da diese Korrelation aber erst zum Zeitpunkt 72 Stunden negativ ist, liegt die Vermutung nahe, daß erst im Reaktionsverlauf ein Maximum der irritativen Reaktion erreicht wird. Dieses Maximum wird durch die hier gewählten Meßzeitpunkte nicht erfaßt und liegt vermutlich zwischen 48 und 72 Stunden. Hiernach findet eine Umkehr der Reaktion statt. Mit Beginn der Regeneration der Epidermis fällt der TEWL ab und die HY steigt zeitverzögert bei fortgeschrittenem Heilungsprozeß an, sobald die Hautbarriere wieder ausreichend aufgebaut ist.

Im Konzentrationsvergleich von 0,5 und 1 % NLS sowie 2 und 5 % NLS zeigt sich bei Betrachtung der zeitlichen Variable stets ein signifikanter Unterschied der TEWL-Werte. Im 4-Stunden-Test zeigen die Konzentrationen 2 und 5 % NLS höchst signifikante Unterschiede. Man stellt fest, daß durch 2 % NLS bereits eindeutige akut irritative Reaktionen hervorgerufen werden und sich diese TEWL-Meßergebnisse deutlich von den Basiswerten abgrenzen lassen. Darüber hinaus ergibt sich bei 5 % NLS eine größere Streuung der TEWL-Werte (siehe Darstellungen 19a-b, 35a-b). Es ist daher anzunehmen, daß eine 2 %-ige NLS-Lösung zuverlässigere Ergebnisse liefert und bereits ausreichend für eine eindeutige 4-stündige Provokationstestung ist. Nicht zu unterschätzen sind auch die durch zu hohe Konzentrationen und zu langer Applikationsdauer entstehenden, eventuell dauerhaften Hautschäden in Form von Krusten und Nekrosen im Bereich der Teststellen. So zeigten sich in vorliegender Studie bei Personen mit empfindlicher Haut bei 5 % NLS über 4 Stunden mitunter sehr stark ausgeprägte Reaktionen.

Vergleicht man die verschiedenen Konzentrationen (siehe Darstellungen 19a-b), so zeigen sich bei 0,5 % NLS für 24-Stunden, ohne die VB im Einzelnen zu beleuchten, die niedrigsten TEWL-Werte, die die geringste Streuung aufweisen, klar vom Basiswert abgrenzbar sind und somit die aussagekräftigsten Ergebnisse liefern. Weiterhin liegen

die TEWL-Werte von 0,5 und 2 % NLS, wie auch die Werte von 1 und 5 % NLS auf vergleichbarem Wertenniveau.

Lediglich die höhere Streuung beider Konzentrationen des 4-Stunden-Test (2 und 5 % NLS) im Vergleich zum 24-Stunden-Test (0,5 und 1 % NLS) bei sonst gleichem Wertenniveau rechtfertigt jedoch nicht die längere Testdauer von 20 Stunden.

Bei den VS unterscheiden sich die Konzentrationen 0,5 und 1 % NLS sowie 2 und 5 % NLS jeweils auf signifikantem Niveau. Die 2 %-ige NLS-Lösung ist nur bedingt ausreichend, um im 4-Stunden-Test sichtbare visuelle Reaktionen zu erzielen. Klinisch eindeutig positive VS treten erst bei einer Konzentration von 5 % NLS auf, so daß dies im Falle einer visuellen Bewertung der Testreaktionen berücksichtigt werden muß. Die zuverlässigsten Ergebnisse des VS im Rahmen einer Provokationstestung erhält man bei einer Konzentration von 1 % NLS über einen Zeitraum von 24 Stunden (siehe auch Darstellungen 26a-b; Tabelle 14). Dem liegt vermutlich der klassische Pathomechanismus der irritativen Reaktion (siehe Kapitel 1.2.5.3, 1.2.5.4) zugrunde.

In vorliegender Studie ist die Konzentration des Detergenz für die Messung des EI nicht von Bedeutung. Es treten weder signifikante Unterschiede zwischen einzelnen Konzentrationen auf, noch im Speziellen ein Unterschied zwischen 2 und 5 % NLS (siehe Tabelle 7). Jedoch läßt sich sowohl beim EI als auch beim VS zwischen 0,5 und 1 % NLS zum ersten Meßzeitpunkt (24 Stunden) ein deutlicherer Anstieg als bei 2 und 5 % NLS zum ersten Meßzeitpunkt (4 Stunden) erkennen (siehe Darstellungen 26a-b, 29a-b). Es werden beim EI aber insgesamt ähnliche Werte in beiden Testreihen erzielt, so daß der 4-Stunden-Test für eine eindeutige Erhöhung des EI ausreichend erscheint.

Die bei VB 4 und 5 grundsätzlich nicht signifikanten Konzentrationsunterschiede zwischen 2 und 5 % NLS könnten auf eine Konzentrationsunabhängigkeit der Testreaktion, bedingt durch das schnelle und direkte Eindringen des NLS in die Dermis hinweisen. Im Falle der 24-Stunden-Testreihe (0,5 und 1 % NLS) dauert der Gesamtmechanismus der Penetration länger und die immunologischen Mechanismen kommen bereits in vollem Umfang zum Tragen.

Nach neuesten Erkenntnissen von Aramaki et al. (2001b) ist die NLS-Konzentration entscheidender als die Expositionszeit des NLS-Test. Theoretisch bedeutet dies, daß bei Verwendung entsprechend hoher NLS-Konzentrationen die Expositionszeit generell verkürzt werden kann. Dies kann durch unser Ergebnisse durchaus bestätigt werden. Es zeigt sich jedoch bei der kleinsten Konzentration die geringste Streuung der

Testergebnisse, sowohl für den TEWL, als auch die HY. Es bleibt daher zu prüfen, ob die Verwendung höherer NLS-Konzentrationen ebenso valide Testergebnisse liefert.

Bei genauer Betrachtung der HY stellt man fest, daß sich die Werte des 4-Stunden- und 24-Stunden-Test direkt bei Testabnahme nur unwesentlich unterscheiden. Jedoch sind die Hydrationswerte im Zeitverlauf des 4-Stunden-Test vom ersten zum zweiten Meßzeitpunkt kaum rückläufig, sehr wohl aber zum Zeitpunkt 72 Stunden. Dagegen zeigt sich im 24-Stunden-Test gleich ein deutlicher Werterückgang vom ersten zum zweiten Meßzeitpunkt. Vermutlich liegt dies an dem großzügigen Zeitintervall von 48 Stunden zwischen den beiden Messungen.

Nach den bisher diskutierten Sachverhalten ist die klinische Umsetzbarkeit eines 4-Stunden-Tests grundsätzlich möglich. Im Hinblick auf die TEWL Messungen wäre ein 4-Stunden-Test unter Anwendung einer 2 %-igen NLS-Lösung ohne weitere Nachmessungen zur Beurteilung des irritativen Reaktionspotentials von Patienten geeignet. Betrachtet man die TEWL-Werte, so stellt man eine ähnliche Streuung sowohl der Mittelwerte als auch der Standardabweichung zum Zeitpunkt 4 und 24 Stunden fest (siehe Kapitel 3.7.3). Dies zeigt, daß der 4-Stunden-Test hinsichtlich seiner Zuverlässigkeit und Objektivität geeignet ist, Aussagen zum Irritationspotential von Patienten nach Provokationstestung mit NLS zu treffen.

Trotz der auffällig positiven Korrelation zwischen TEWL und VS sollte aber nicht auf die Anwendung einer visuellen Bewertung verzichtet werden. Wiederum ist aber für eindeutige VS im 4-Stunden-Test eine Konzentration von 2 % NLS nicht ausreichend und somit für eine adäquate visuellen Bewertung die Applikation 5 %-igen NLS notwendig. Beim VS sind jedoch, aufgrund der oftmals verzögert auftretenden Testreaktionen, Nachmessungen erforderlich. Eine zweite Nachmessung (72 Stunden) beim 4-Stunden-Test ist unserer Auffassung nach generell abzulehnen, da sowohl die TEWL-Werte, als auch die VS, unabhängig von der Art der VB, zum Zeitpunkt 72 Stunden, vermutlich durch den einsetzenden Regenerationsprozeß, bereits rückläufig sind.

Die visuelle Bewertung stellt natürlich die Objektivität der Ergebnisse in Frage. Dies kann durch einen eng eingeschränkten Kreis an Untersuchern und ein standardisiertes Vorgehen bzw. Bewertungsschema eingegrenzt werden. Vor allem bei der klinischen Bewertung einer IKD bzw. der Prüfung auf Hautempfindlichkeit ist der VS ein gutes Kriterium zur Beurteilung bzw. zum Vergleich mehrerer Teststellen bzw. -reaktionen



eines Patienten. Im inter-individuellen Vergleich bzw. im Vergleich verschiedener Studien müssen die Ergebnisse jedoch kritisch relativiert werden.

In Übereinstimmung mit Agner et al. (1990d) erachten wir den EI als wenig zuverlässige und kaum sensitive Methode, Testreaktionen objektiv zu erfassen, da sich u.a. seine Testwerte nicht eindeutig von den Basiswerten abgrenzen lassen (siehe Kapitel 3.4). Da sowohl die Literatur (Serup et al., 1990) wie auch diese Arbeit eine Korrelation zwischen dem EI und dem VS aufzeigt, kann nach unserer Auffassung bei Durchführung einer visuellen Bewertung die Messung des Erythems vernachlässigt werden. Bei speziellen Fragestellungen kann der EI aber durchaus zusätzlich herangezogen werden, um ergänzende oder stützende Ergebnisse zu erhalten (Wilhelm et al., 1989).

Ähnlich verhält es sich für die HY. Da diese Meßmethode im Allgemeinen starken intra-individuellen Schwankungen unterworfen ist, keine eindeutigen Testwerte liefert (siehe Kapitel 3.4), wird sie als bedingt aussagekräftig eingestuft und ist bei vorliegender Fragestellung kein geeignetes Kriterium für oder gegen die Etablierung eines 4-Stunden-Provokationstest. Kommt sie dennoch zur Anwendung ist aufgrund dargelegter Sachverhalte eine Nachmessung nach 72 Stunden unbedingt erforderlich.

#### **4.4 Übergreifende Diskussion und klinischer Ausblick**

Anhand der erzielten Daten, wie auch subjektiver Erkenntnisse, empfiehlt sich die Messung des TEWL als Meßmethode höchster Priorität zur Beurteilung der Hautbarriere. Im Rahmen einer Fehlerbetrachtung der Meßmethoden (siehe Kapitel 3.4) hat sich der TEWL als eindeutiger Meßparameter erwiesen. Trotz des internen Meßfehlers des Gerätes sind die Mittelwerte vor und nach Testung jeweils eindeutig zuzuordnen. Die bereits vielfach beschriebene gute Aussagekraft und Zuverlässigkeit des TEWL kann demnach bestätigt werden (Wilhelm et al., 1989; Agner et al., 1990b; Agner, 1992; Agner et al., 1993; Lee et al., 1995).

Weiterhin zeigt sich der VS, bei ausreichend hoher Konzentration der NLS-Lösung, als guter Indikator für eine stattgefundene irritative Reaktion und liefert schnell und zuverlässig einen subjektiven Eindruck über das Irritationspotential bzw. die Hautempfindlichkeit von Patienten. Dennoch kann die visuelle Bewertung die Messung des TEWL nicht ersetzen, da mit dem TEWL auch Reaktionen erfaßt werden können, die keine inflammatorische Komponente zeigen aber dennoch eine Barrierschädigung aufweisen.

Aufgrund der geringen Aussagekraft des EI und der nicht vorhandenen Eindeutigkeit der Meßergebnisse (siehe Kapitel 3.4) erscheint uns dessen Anwendung von untergeordneter Bedeutung. Die Messung des EI im klinischen Alltag kann daher nicht befürwortet werden. Lediglich zur speziellen Differenzierung und Verdeutlichung von Ergebnissen zu Studienzwecken mögen die Messungen des EI additiv zu anderen Meßverfahren sinnvoll sein. Ähnlich verhält es sich bei Hydrationsmessung, wobei diese der Messung des EI vorzuziehen wäre.

Wir erachten daher die Anwendung der TEWL-Messung mit einer ergänzenden visuellen Bewertung als sinnvolles klinisches Scoring im Rahmen von Irritationstests.

Es läßt sich generell sagen, daß durch eine VB der Teststellen vor Testapplikation keine Vorteile entstehen. Im Gegenteil, durch VB wird die Hautbarriere zusätzlich mechanisch geschädigt. Dies verringert sowohl die Eindeutigkeit der Testergebnisse, wie auch das Maß der Zuverlässigkeit des Tests. Die Anwendung von VB ist daher abzulehnen und die zusätzliche Schädigung der Haut bzw. die Aufwendigkeit der Testung, verbunden mit den zusätzlichen Unannehmlichkeiten für den Patienten, nicht zu rechtfertigen. Schlußfolgernd muß die bereits etablierte Technik der reinen Applikation (VB 1) als sinnvollste und eindeutigste Methode weiterhin als „Goldstandard“ bestätigt und empfohlen werden.

Nach unserer Auffassung kann eine Verkürzung der Applikationsdauer und des NLS-Test befürwortet und umgesetzt werden. Hierdurch wird die Diagnostik verkürzt, entkompliziert und angenehmer für die Patienten. Unsere Ergebnisse zeigen deutlich, daß durch eine kürzere Applikation höher konzentrierter NLS-Lösungen, sowohl klinisch als auch durch hautphysiologische Untersuchungsmethoden eindeutig erfaßbare Testreaktionen erzielt werden können. Dies bestätigt die Ergebnisse diverser Studien (Le et al., 1996; Loden et al., 1996; Aramaki et al., 2001b), die ebenfalls mit kürzeren Testzeiten experimentiert haben.

Die für aussagekräftige Ergebnisse eines klinischen Scoring, bestehend aus TEWL und VS, notwendige Konzentration für eine 4-stündige Applikation liegt in vorliegender Arbeit bei 5 % NLS.

Da die irritative Reaktion bekanntermaßen stark von einer geeigneten Kombination aus Konzentration und Applikationsdauer abhängig ist (Serup et al., 1987; Agner et al., 1989b; Wilhelm et al., 1989; Agner et al., 1990c, 1993) bedarf es für die klinische Umsetzung des 4-Stunden-Test weiterführender Untersuchungen, ein optimales Testprotokoll zu evaluieren. Dieses sollte sowohl eine möglichst geringe Konzentration,

die möglicherweise zwischen 2 und 5 % NLS liegt, wählen. Ebenso sollte eine weitere Minimierung der Applikations- bzw. Testdauer angestrebt werden, um so Irritationstestungen für den Klinikalltag noch praktikabler zu gestalten und bei möglichst niedrigerer Belastung für den Patienten eine eindeutig irritative Testreaktion auszulösen.

Bei der Wahl eines klinisch geeigneteren Testareals könnte der volarseitige Unterarm die oberen Rückenpartien ersetzen. In einer Studie von Löffler et al. (2001b) wurden höhere Werte am Unterarm im Vergleich zum Rücken erzielt, jedoch existiert eine starke Korrelation zwischen diesen beiden Arealen. Gegebenenfalls muß vor Etablierung des 4-Stunden-Test am Unterarm durch Testreihen ein Protokoll von Standardwerten der entsprechenden NLS-Konzentration dieser anatomischen Region evaluiert werden.

Da wir Nachmessungen für den TEWL nicht für notwendig erachten, ist in Kombination mit dem VS dennoch eine zusätzliche visuelle Bewertung zu einem zweiten Zeitpunkt (24 Stunden) angebracht. Neue Erkenntnisse von Aramaki et al. (2001b) zu geeigneten Meßzeitpunkten legen ohnehin eine Messung des TEWL 24 Stunden nach Testabnahme nahe. Wie vorliegende Ergebnisse zeigen, bleiben die Werte des TEWL ohne die Anwendung von VB zwischen 4 und 24 Stunden auf einem gewissen Plateau (siehe Darstellung 40a). Daher wäre eine Applikationsdauer von 4 oder weniger Stunden mit entsprechend optimierten Konzentrationen anzustreben, und sowohl die Messung des TEWL, als auch die visuelle Bewertung, einmalig 24 Stunden nach Abnahme der Testpflaster sinnvoll.

Das getestete Verfahren kann Personen mit erhöhtem Risiko für eine IKD identifizieren und führt so zu einer Vereinfachung der Diagnostik bei Dermatitis-Patienten bzw. zu einem vereinfachten Screening der Hautempfindlichkeit für Irritantien. Für die praktische Anwendung im Klinikalltag liefern die vorliegenden Erkenntnisse eine erhebliche Zeiteinsparung und Vereinfachung des gesamten Testprocedere.

Es wird auch deutlich, daß weitere Forschungen notwendig sind, das tatsächliche Penetrationsverhalten von NLS in die tieferen Hautschichten und den dort stattfindenden Reaktionsmechanismus immunologisch genauer zu erfassen.

## 5 Zusammenfassung

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, durch Variation verschiedener Applikationszeiten, Konzentrationen und Vorbehandlungen (VB) der Teststellen zu evaluieren, ob der bisher übliche 24-stündige epikutane Irritationstest auf 4 Stunden verkürzt werden kann. Hierzu wurde an 36 hautgesunden Probanden ein epikutaner Natriumlaurylsulfat-Test (NLS-Test) auf die oberen Rückenpartien appliziert. Folgende Variablen wurden hierzu angewendet:

- Applikationszeiten: 4 und 24 Stunden
- Meßzeitpunkte: 4, 24 und 72 Stunden
- Testkonzentrationen: 0,5 %, 1 %, 2 %, 5 % NLS-Lösung in aqua dest.
- Fünf verschiedene VB der Teststellen, wie folgt:
  - Reine Applikation ohne VB (VB 1)
  - Prick-Test mit Lanzette (VB 2)
  - Prick-Test mit Teststempel (VB 3)
  - Skarifikation mit Lanzette (VB 4)
  - Definierte Inzision mit Skalpell (VB 5)

Die Testreaktionen wurden mittels hautphysiologischer Untersuchungsmethoden erfaßt. Der transepidermale Wasserverlust (TEWL) wurde mittels TEWAMETER<sup>®</sup>, das Erythem (EI) mittels MEXAMETER<sup>®</sup>, sowie die Hydration (HY) mittels CORNEOMETER<sup>®</sup> gemessen. Desweiteren wurden die Teststellen durch ein visuelles Scoring (VS) bewertet. Vor Testbeginn wurden jeweils die Basiswerte gemessen.

### VERSCHIEDENE VORBEHANDLUNGEN DER TESTSTELLEN

Hinsichtlich der angewandten VB lassen sich die Testwerte klar in zwei Gruppen aufteilen: VB 1 - 3 und VB 4 - 5. Aufgrund dieser eindeutigen Gruppierung liegt die Vermutung nahe, daß den VB 4 und 5 ein anderer Reaktionsmechanismus zugrunde liegt. NLS dringt hier, vermutlich bedingt durch die Verletzung der Hautbarriere und die Kapillarwirkung, direkt in tiefere Epidermisschichten bzw. ins Korium ein und es wirkt eine geringere Menge NLS über die Epidermis. Hierdurch wird der für irritative Reaktionen verantwortliche Reaktionsmechanismus, die Penetration des NLS durch Stratum corneum und Epidermis und die Interaktion mit deren Strukturen, weitestgehend umgangen. Vermutlich findet zudem bei den VB 4 - 5 eine irritative Reaktion in den tieferen Hautschichten statt, wobei der exakte Wirkmechanismus hier

noch nicht vollständig erforscht ist. Gemäß der bekannten Dosisabhängigkeit der NLS-Reaktion treten bei diesen VB geringere visuelle Reaktionen auf.

Die alleinige Applikation hat sich gegenüber der Applikation mit VB bewährt, da hier der klassische Reaktionsmechanismus nicht beeinträchtigt ist. Diese Erkenntnisse legen die Vermutung nahe, daß die Reaktion umso ungenauer und unprädictiver ist, desto invasiver die VB ist. Die alleinige Applikation kann somit als Methode der Wahl bzw. „Goldstandard“ bestätigt werden und die Anwendung von VB der Haut vor Testapplikation wird abgelehnt.

#### **4-STUNDEN NLS-TEST**

In der vorliegenden Studie konnten sowohl für den VS als auch den EI verzögerte Reaktionen, sogenannte Crescendo-Reaktionen, beobachtet werden. Die für den TEWL beschriebenen verzögerten Reaktionen konnten durch vorliegende Testergebnisse nicht bestätigt werden. Nachmessungen der Teststellen scheinen daher nur für den VS, den EI und die HY sinnvoll, nicht jedoch für den TEWL.

Aufgrund der Korrelation zwischen VS und EI und der schwachen Aussagekraft des EI wird für ein klinisches Scoring nur die additive visuelle Bewertung, zusätzlich zur Messung des TEWL, für sinnvoll erachtet.

Zusammenfassend kann die Etablierung eines 4-Stunden NLS-Irritationstest befürwortet werden. Die Testdauer wird damit enorm verkürzt, der Test für den klinischen Alltag praktikabler und angenehmer für den Patienten. Der 4-stündige Provokationstest erzielt in ausreichend hohen Konzentrationen des Detergenz eine gute Aussagekraft hinsichtlich erhöhter Hautempfindlichkeit für Irritantien. Wegen der limitierten Spezifität des NLS-Tests sollten Testergebnisse stets kritisch interpretiert werden.

Folgendes Procedere erscheint demnach geeignet: Ein 4-stündiger epikutaner Irritationstest mit einer Konzentration zwischen 2 und 5 % NLS in aqua dest. wird ohne VB okklusiv auf die Haut appliziert. Die Bewertung der Teststellen erfolgt sowohl mit dem TEWAMETER® zur Messung des TEWL sowie einem visuellen Scoring, einmalig zum Zeitpunkt 24 Stunden nach Abnahme der Testkammern. Es sind weiterführende Studien erforderlich, um ein hierfür optimales Testprotokoll zu evaluieren. Hierin sollte die Konzentration und Applikationsdauer so gering wie möglich gewählt werden, um etwaige dosisbedingte Langzeitschäden der Haut zu vermeiden.

## Literaturverzeichnis

- Agner T: Basal transepidermal water loss, skin thickness, skin blood flow and skin colour in relation to sodium-lauryl-sulphate-induced irritation in normal skin. *Contact Dermatitis* 1991a; 25(2): 108-114.
- Agner T: Skin susceptibility in uninvolved skin of hand eczema patients and healthy controls. *Br J Dermatol* 1991b; 125(2): 140-146.
- Agner T: Susceptibility of atopic dermatitis patients to irritant dermatitis caused by sodium lauryl sulphate. *Acta Derm Venereol* 1991c; 71(4): 296-300.
- Agner T: Noninvasive measuring methods for the investigation of irritant patch test reactions: A study of patients with hand eczema, atopic dermatitis and controls. *Acta Derm Venereol Suppl* (Stockh) 1992; 173: 1-26.
- Agner T, Fullerton A, Broby-Johansen U, Batsberg W: Irritant patch testing: penetration of sodium lauryl sulphate into human skin. *Skin Pharmacol* 1990a; 3(4): 213-217.
- Agner T, Serup J: Seasonal variation of skin resistance to irritants. *Br J Dermatol* 1989a; 121(3): 323-328.
- Agner T, Serup J: Skin reactions to irritants assessed by non-invasive bioengineering methods. *Contact Dermatitis* 1989b; 20(5): 352-359.
- Agner T, Serup J: Individual and instrumental variations in irritant patch-test reactions--clinical evaluation and quantification by bioengineering methods. *Clin Exp Dermatol* 1990b; 15(1): 29-33.
- Agner T, Serup J: Sodium lauryl sulphate for irritant patch testing--a dose-response study using bioengineering methods for determination of skin irritation. *J Invest Dermatol* 1990c; 95(5): 543-547.
- Agner T, Serup J: Time course of occlusive effects on skin evaluated by measurement of transepidermal water loss (TEWL). Including patch tests with sodium lauryl sulphate and water. *Contact Dermatitis* 1993; 28(1): 6-9.
- Agner T, Serup J, Handlos V, Batsberg W: Different skin irritation abilities of different qualities of sodium lauryl sulphate. *Contact Dermatitis* 1989c; 21(3): 184-188.
- Andersen KE, Benezra C, Burrows D, Camarasa J, Dooms-Goossens A, Ducombs G, Frosch P, Lachapelle JM, Lahti A, Menne T, et al.: Contact dermatitis. A review. *Contact Dermatitis* 1987; 16(2): 55-78.
- Aramaki J, Effendy I, Happle R, Kawana S, Löffler C, Löffler H: Which bioengineering assay is appropriate for irritant patch testing with sodium lauryl sulfate? *Contact Dermatitis* 2001a; 45(5): 286-290.

- Aramaki J, Löffler C, Kawana S, Effendy I, Happel R, Löffler H: Irritant patch testing with sodium lauryl sulphate: interrelation between concentration and exposure time. *Br J Dermatol* 2001b; 145(5): 704-708.
- Asada H, Linton J, Katz SI: Cytokine gene expression during the elicitation phase of contact sensitivity: regulation by endogenous IL-4. *J Invest Dermatol* 1997; 108(4): 406-411.
- Basketter D, Blaikie L, Reynolds F: The impact of atopic status on a predictive human test of skin irritation potential. *Contact Dermatitis* 1996a; 35(1): 33-39.
- Basketter DA, Chamberlain M, Griffiths HA, Rowson M, Whittle E, York M: The classification of skin irritants by human patch test. *Food Chem Toxicol* 1997a; 35: 845-852.
- Basketter DA, Griffiths HA, Wang XM, Wilhelm KP, McFadden J: Individual, ethnic and seasonal variability in irritant susceptibility of skin: the implications for a predictive human patch test. *Contact Dermatitis* 1996b; 35(4): 208-213.
- Basketter DA, Miettinen J, Lahti A: Acute irritant reactivity to sodium lauryl sulfate in atopics and non-atopics. *Contact Dermatitis* 1998; 38(5): 253-257.
- Basketter DA, Reynolds FS, York M: Predictive testing in contact dermatitis. Irritant dermatitis. *Clin Dermatol* 1997b; 15(4): 637-644.
- Basketter DA, Whittle E, Griffiths HA, York M: The identification and classification of skin irritation hazard by a human patch test. *Food Chem Toxicol* 1994; 32(8): 769-775.
- Bäurle G, Hornstein OP, Diepgen TL: Professionelle Handekzeme und Atopie. *Dermatosen* 1985; 33: 161-165.
- Berardesca E, Maibach HI: Bioengineering and the patch test. *Contact Dermatitis* 1988a; 18(1): 3-9.
- Berardesca E, Maibach HI: Racial differences in sodium lauryl sulphate induced cutaneous irritation: black and white. *Contact Dermatitis* 1988b; 18(2): 65-70.
- Berardesca E, Maibach HI: Sodium-lauryl-sulphate-induced cutaneous irritation: Comparison of white and Hispanic subjects. *Contact Dermatitis* 1988c; 19(2): 136-140.
- Berardesca E, Vignoli GP, Distant F, Brizzi P, Rabbiosi G: Effects of water temperature on surfactant-induced skin irritation. *Contact Dermatitis* 1995; 32(2): 83-87.
- Bettley FR, Grice KA: The influence of ambient humidity on transepidermal water loss. *Br J Dermatol* 1967; 79(11): 575-581.
- Björnberg A: Skin reactions to primary irritants in patients with hand eczema. Göteborg: Oscar Isacson Tryckeri AB, 1968.

- Björnberg A: Skin reactivity to primary irritants in men and women. *Acta Derm Venereol* 1975; 55: 191-194.
- Björnberg A, Lowhagen G, Tengberg JE: Relationship between intensities of skin test reactions to glass-fibres and chemical irritants. *Contact Dermatitis* 1979; 5(3): 171-174.
- Blank IH: Factors which influence the water content of the stratum corneum. *J Invest Dermatol* 1952; 18: 433-440.
- Blichmann C, Serup J: Hydration studies on scaly hand eczema. *Contact Dermatitis* 1987; 16(3): 155-159.
- Brand CU, Hunziker T, Braathen LR: Studies on human skin lymph containing Langerhans cells from sodium lauryl sulphate contact dermatitis. *J Invest Dermatol* 1992; 99(5): 109S-110S.
- Brand CU, Hunziker T, Limat A, Braathen LR: Large increase of Langerhans cells in human skin lymph derived from irritant contact dermatitis. *Br J Dermatol* 1993; 128(2): 184-188.
- Brand CU, Hunziker T, Schaffner T, Limat A, Gerber HA, Braathen LR: Activated immunocompetent cells in human skin lymph derived from irritant contact dermatitis: an immunomorphological study. *Br J Dermatol* 1995; 132(1): 39-45.
- Brand CU, Hunziker T, Yawalkar N, Braathen LR: IL-1 beta protein in human skin lymph does not discriminate allergic from irritant contact dermatitis. *Contact Dermatitis* 1996; 35(3): 152-156.
- Brasch J, Becker D, Effendy I: Reproducibility of irritant patch test reactions to sodium lauryl sulfate in double-blind placebo-controlled randomized study using clinical scoring. Results from a study group to the German Contact Dermatitis Research Group (Deutsche Kontaktallergie-Gruppe, DKG). *Contact Dermatitis* 1999; 41: 150-155.
- Brasch J, Burgand J, Sterry W: Common pathogenetic pathways in allergic and irritant contact dermatitis. *J Invest Dermatol* 1992; 98: 166-170.
- Braun-Falco O, Plewig G, Wolff HH: *Dermatologie und Venerologie.*, 4 ed: Springer-Verlag, Germany, 1995; 403-413.
- Bruynzeel DP, van Ketel WG, Scheper RJ, von Blomberg-van der Flier BM: Delayed time course of irritation by sodium lauryl sulfate: observations on threshold reactions. *Contact Dermatitis* 1982; 8(4): 236-239.
- Choi JM, Lee JY, Cho BK: Chronic irritant contact dermatitis: recovery time in man [In Process Citation]. *Contact Dermatitis* 2000; 42(5): 264-269.



- Coenraads PJ, Lee J, Pinnagoda J: Changes in water vapor loss from the skin of metal industry workers monitored during exposure to oils. *Scand J Work Environ Health* 1986; 12(5): 494-498.
- Coenraads PJ, Pinnagoda J: Dermatitis and water vapour loss in metal workers. *Contact Dermatitis* 1985; 13(5): 347-348.
- Courage+Khazaka electronic GmbH: Anleitung zum CORNEOMETER CM 820. Mathias-Brüggen-Strasse 91, 50829 Köln/ Germany, 1998a.
- Courage+Khazaka electronic GmbH: Anleitung zum MEXAMETER MX 16. Mathias-Brüggen-Strasse 91, 50829 Köln/ Germany, 1998b.
- Courage+Khazaka electronic GmbH: Bedienungsanleitung zum TEWAMETER TM 210. Mathias-Brüggen-Strasse 91 , 50829 Köln/ Germany, 1998c.
- Cowley NC, Farr PM: A dose-response study of irritant reactions to sodium lauryl sulphate in patients with seborrhoeic dermatitis and atopic eczema. *Acta Derm Venereol* 1992; 72(6): 432-435.
- Cua AB, Wilhelm KP, Maibach HI: Cutaneous sodium lauryl sulphate irritation potential: Age and regional variability. *Br J Dermatol* 1990a; 123(5): 607-613.
- Cua AB, Wilhelm KP, Maibach HI: Frictional properties of human skin: relation to age, sex and anatomical region, stratum corneum hydration and transepidermal water loss. *Br J Dermatol* 1990b; 123(4): 473-479.
- Dahl MV, Roering MJ: Sodium lauryl sulfate irritant patch tests. III. Evaporation of aqueous vehicle influences inflammatory response. *J Am Acad Dermatol* 1984; 11(3): 477-479.
- Dahl MV, Trancik RJ: Sodium lauryl sulfate irritant patch tests: Degree of inflammation at various times. *Contact Dermatitis* 1977; 3(5): 263-266.
- De Fine Olivarius F, Agner T, Menne T: Skin barrier function and dermal inflammation. An experimental study of transepidermal water loss after dermal tuberculin injection compared with SLS patch testing. *Br J Dermatol* 1993; 129(5): 554-557.
- Denda M, Emami S, Wood LC, Elias PM: Epidermal injury vs. barrier disruption as initiators of epidermal proliferation and inflammation. *J Invest Dermatol* 1995; 104: 562.
- Dickel H, Kuss O, Schmidt A, Kretz J, Diepgen TL: Importance of irritant contact dermatitis in occupational skin disease. *Am J Clin Dermatol* 2002; 3(4): 283-289.
- Diepgen TL, Coenraads PJ: The epidemiology of occupational contact dermatitis. *Int Arch Occup Environ Health* 1999; 72(8): 496-506.

- Diepgen TL, Fartasch M: Handekzeme, Beruf und atopische Diathese. Stuttgart: Gentner, 1991; 383-387.
- Effendy I, Löffler H, Maibach HI: Epidermal cytokines in murine cutaneous irritant responses. *J Appl Toxicol* 2000; 20(4): 335-341.
- Elsner P, Wilhelm D, Maibach HI: Sodium lauryl sulfate-induced irritant contact dermatitis in vulvar and forearm skin of premenopausal and postmenopausal women. *J Am Acad Dermatol* 1990; 23(4 Pt 1): 648-652.
- Enk AH, Katz SI: Early events in the induction phase of contact sensitivity. *J Invest Dermatol* 1992; 99(5): 39S-41S.
- Fartasch M: Human barrier formation and reaction to irritation. *Curr Probl Dermatol* 1995; 23: 95-103.
- Fartasch M: Ultrastructure of the epidermal barrier after irritation. *Microsc Res Tech* 1997; 37(3): 193-199.
- Ferguson J, Gibbs JH, Beck JS: Lymphocyte subsets and Langerhans cells in allergic and irritant patch test reactions: Histometric studies. *Contact Dermatitis* 1985; 13(3): 166-174.
- Fisher LB, Maibach HI: Effect of some irritants on human epidermal mitosis. *Contact Dermatitis* 1975; 1(5): 273-276.
- Fitzpatrick: *Dermatology in general medicine.*, 5 ed, vol 2: Mc Graw-Hill, USA, 1999; 1609-1613.
- Freeman S, Maibach H: Study of irritant contact dermatitis produced by repeat patch test with sodium lauryl sulfate and assessed by visual methods, transepidermal water loss, and laser Doppler velocimetry. *J Am Acad Dermatol* 1988; 19(3): 496-502.
- Froebe CL, Simion FA, Rhein LD, Cagan RH, Kligman A: Stratum corneum lipid removal by surfactants: relation to in vivo irritation. *Dermatologica* 1990; 181(4): 277-283.
- Frosch PJ: *Hautirritation und empfindliche Haut.* Berlin: Grosse Scripta 7, Grosse, 1985.
- Frosch PJ: Cutaneous irritation. In: Rycroft R. C. G., Menné T., Frosch P.J., Benezra C., eds. *Textbook of Contact Dermatitis.* Berlin: Springer, 1992; pp 28-61.
- Frosch PJ, Czarnetzki BM: Surfactants cause in vitro chemotaxis and chemokinesis of human neutrophils. *J Invest Dermatol* 1987; 88(3 Suppl): 52s-55s.
- Frosch PJ, Kligman AM: The Duhring chamber: An improved technique for epicutaneous testing of irritant and allergic reactions. *Contact Dermatitis* 1979a; 5(2): 73-81.
- Frosch PJ, Kligman AM: The soap chamber test. *J Am Acad Dermatol* 1979b; 1: 35-41.
-

- Frosch PJ, Kurte A: Efficacy of skin barrier creams (IV): The repetitive irritation test (RIT) with a set of 4 standard irritants. *Contact Dermatitis* 1994; 31(3): 161-168.
- Frosch PJ, Rustemeyer T, Schnuch A: Kontaktdermatitis, Teil I. *Hautarzt* 1996a; 47(11): 874-882.
- Frosch PJ, Rustemeyer T, Schnuch A: Kontaktdermatitis, Teil II. *Hautarzt* 1996b; 47(12): 945-961.
- Frosch PJ, Schulze-Dirks A, Hoffmann M, Axthelm I: Efficacy of skin barrier creams (II): Ineffectiveness of a popular "skin protector" against various irritants in the repetitive irritation test in the guinea pig. *Contact Dermatitis* 1993; 29(2): 74-77.
- Frost P, Weinstein GD, Bothwell JW, Wildnauer R: Ichthyosiform dermatoses. 3. Studies of transepidermal water loss. *Arch Dermatol* 1968; 98(3): 230-233.
- Fullerton A, Broby-Johansen U, Agner T: Sodium lauryl sulphate penetration in an in vitro model using human skin. *Contact Dermatitis* 1994; 30(4): 222-225.
- Gisslen H, Magnusson B: Effects of detergents on guinea pig skin. Histological studies after single exposure to anionic, cationic and non-ionic surfactants. *Acta Derm Venereol* 1966; 46(4): 269-274.
- Gloor M, Vollm P, Gehse M, Ringelmann R: [Irritant effect of tensides on occupational dermatitis patients in hairdressing and nursing occupations. Comparative studies of healthy persons and neurodermatitis patients]. *Derm Beruf Umwelt* 1985; 33(3): 86-89.
- Gobrecht H: Molekularphysik. In: Bergmann L., Schäfer C., eds. *Lehrbuch der Experimentalphysik: Mechanik, Akustik, Wärme*, vol Band 1. Berlin: De Gryter Verlag, 1990; 468-470; 762.
- Goh CL, Chia SE: Skin irritability to sodium lauryl sulphate--as measured by skin water vapour loss-by sex and race. *Clin Exp Dermatol* 1988; 13(1): 16-19.
- Grice K, Sattar H, Baker H: The effect of ambient humidity on transepidermal water loss. *J Invest Dermatol* 1972; 58(6): 343-346.
- Grice K, Sattar H, Sharratt M, Baker H: Skin temperature and transepidermal water loss. *J Invest Dermatol* 1971; 57(2): 108-110.
- Grice KA: Transepidermal water loss. In: Jarret A., ed. *The physiology and pathophysiology of the skin*, vol 6. London: Academic press, 1980; 2115-2127.
- Grice KA, Bettley FR: Skin water loss and accidental hypothermia in psoriasis, ichthyosis, and erythroderma. *Br Med J* 1967; 4(573): 195-198.
- Grubauer G, Feingold KR, Elias PM: Relationship of epidermal lipogenesis to cutaneous barrier function. *J Lipid Res* 1987; 28(6): 746-752.

- Haas J, Lipkow T, Mohamadzadeh M, Kolde G, Knop J: Induction of inflammatory cytokines in murine keratinocytes upon in vivo stimulation with contact sensitizers and tolerizing analogues. *Exp Dermatol* 1992; 1(2): 76-83.
- Hammer A, Hammer K: *Physikalische Formeln und Tabellen.*, 5 ed. Muenchen: J. Lindauer Verlag (Schaefer), 1992; 40, 85.
- Holst R, Möller H: One hundred twin pairs patch tested with primary irritants. *Br J Dermatol* 1975; 93(2): 145-149.
- Imokawa G, Akasaki S, Minematsu Y, Kawai M: Importance of intercellular lipids in water-retention properties of the stratum corneum: Induction and recovery study of surfactant dry skin. *Arch Dermatol Res* 1989; 281(1): 45-51.
- Jessen C: Temperaturregulation und Wärmehaushalt. In: Klinker R., Silbernagel S., eds. *Lehrbuch der Physiologie.*, vol 2. Stuttgart: Georg Thieme Verlag, 1996; 375 - 386.
- Kawai M, Imokawa G: The induction of skin tightness by surfactants. *J Soc Cosmet Chem* 1984; 35: 147-156.
- Kawasaki Y, Quan D, Sakamoto K, Maibach HI: Electron resonance studies on the influence of anionic surfactants on human skin. *Dermatology* 1997; 194(3): 238-242.
- Kolde G, Knop J: Different cellular reaction patterns of epidermal Langerhans cells after application of contact sensitizing, toxic, and tolerogenic compounds: A comparative ultrastructural and morphometric time-course analysis. *J Invest Dermatol* 1987; 89(1): 19-23.
- Kondo S, Pastore S, Shivji GM, McKenzie RC, Sauder DN: Characterization of epidermal cytokine profiles in sensitization and elicitation phases of allergic contact dermatitis as well as irritant contact dermatitis in mouse skin. *Lymphokine Cytokine Res* 1994; 13(6): 367-375.
- Kühl M, Klaschka F: *Berufsdermatosen.* München: Urban und Schwarzenberg, 1990; 44-46.
- Kuno Y: Human perspiration. *American Lecture Series*, vol 258: Springfield, Charles C. Thomas Publishers, 1965.
- Lachapelle JM: Histopathological and immunohistopathological features of irritants. In: Rycroft R.C.G., Menné T., Frosch P.J., Benezra C., eds. *Textbook of irritant contact dermatitis.* Berlin: Springer, 1992; 94-102.
- Lammintausta K, Maibach HI, Wilson D: Irritant reactivity in males and females. *Contact Dermatitis* 1987; 17(5): 276-280.

- Lammintausta K, Maibach HI, Wilson D: Susceptibility to cumulative and acute irritant dermatitis: An experimental approach in human volunteers. *Contact Dermatitis* 1988; 19(2): 84-90.
- Lavrijsen AP, Oestmann E, Hermans J, Bodde HE, Vermeer BJ, Ponc M: Barrier function parameters in various keratinization disorders: transepidermal water loss and vascular response to hexyl nicotinate. *Br J Dermatol* 1993; 129(5): 547-553.
- Le M, Schalkwijk J, Siegenthaler G, van de Kerkhof PC, Veerkamp JH, van der Valk PG: Changes in keratinocyte differentiation following mild irritation by sodium dodecyl sulphate. *Arch Dermatol Res* 1996; 288(11): 684-690.
- Lee CH, Maibach HI: Study of cumulative irritant contact dermatitis in man utilizing open application on subclinically irritated skin. *Contact Dermatitis* 1994; 30(5): 271-275.
- Lee CH, Maibach HI: The sodium lauryl sulfate model: An overview. *Contact Dermatitis* 1995; 33(1): 1-7.
- Lee JY, Effendy I, Maibach HI: Acute irritant contact dermatitis: recovery time in man. *Contact Dermatitis* 1997; 36(6): 285-290.
- Leveque JL, Corcuff P, de Rigal J, Agache P: In vivo studies of the evolution of physical properties of the human skin with age. *Int J Dermatol* 1984; 23(5): 322-329.
- Leveque JL, de Rigal J, Saint-Leger D, Billy D: How does sodium lauryl sulfate alter the skin barrier function in man? A multiparametric approach. *Skin Pharmacol* 1993; 6(2): 111-115.
- Lindberg M, Farm G, Scheynius A: Differential effects of sodium lauryl sulphate and non-anoic acid on the expression of CD1a and ICAM-1 in human epidermis. *Acta Derm Venereol* 1991; 71(5): 384-388.
- Lisby S, Muller KM, Jongeneel CV, Saurat JH, Hauser C: Nickel and skin irritants up-regulate tumor necrosis factor-alpha mRNA in keratinocytes by different but potentially synergistic mechanisms. *Int Immunol* 1995; 7(3): 343-352.
- Loden M, Andersson AC: Effect of topically applied lipids on surfactant-irritated skin. *Br J Dermatol* 1996; 134(2): 215-220.
- Löffler H: Hautphysiologische Untersuchungen bei Patienten mit flouider und abgeheilten chronisch-irritativen Kontaktdermatitis sowie hautgesunden Kontrollpersonen. Philipps-Universität Marburg; 1996.
- Löffler H, Dannenberg S, Effendy I: Der Einfluß des Vehikels auf den Natriumlaurylsulfat-Test. *Dermatosen / Occup Environ* 1998; 46: 202-205.

- Löffler H, Effendy I: Crescendo reactions to sodium lauryl sulfate and retinoic acid in irritant patch tests. *Contact Dermatitis* 1997; 37(1): 47-48.
- Löffler H, Effendy I: Skin susceptibility of atopic individuals. *Contact Dermatitis* 1999a; 40(5): 239-242.
- Löffler H, Effendy I: Prevention of irritant contact dermatitis. *Eur J Dermatol* 2002; 12(1): 4-9.
- Löffler H, Effendy I, Happle R: [The sodium lauryl sulfate test. A noninvasive functional evaluation of skin hypersensitivity]. *Hautarzt* 1996; 47(11): 832-838.
- Löffler H, Effendy I, Happle R: [Patch testing with sodium lauryl sulfate: benefits and drawbacks in research and practice]. *Hautarzt* 1999b; 50(11): 769-778.
- Löffler H, Effendy I, Happle R: [Irritant contact dermatitis]. *Hautarzt* 2000; 51(3): 203-215.
- Löffler H, Freyschmidt-Paul P, Effendy I, Maibach HI: Pitfalls of irritant patch testing using different test chamber sizes. *Am J Contact Dermat* 2001; 12(1): 28-32.
- Magnusson B, Hersle K: Patch test methods. I. A comparative study of six different types of patch tests. *Acta Derm Venereol* 1965; 45(2): 123-128.
- Mahmoud G, Lachapelle JM, van Neste D: Histological assessment of skin damage by irritants: its possible use in the evaluation of a 'barrier cream'. *Contact Dermatitis* 1984; 11(3): 179-185.
- Malten KE: Thoughts on irritant contact dermatitis. *Br J Dermatol* 1981; 7: 238-247.
- McKenzie RC, Sauder DN: The role of keratinocyte cytokines in inflammation and immunity. *J Invest Dermatol* 1990; 95(6 Suppl): 105S-107S.
- Meding B, Swanbeck G: Epidemiology of different types of hand eczema in an industrial city. *Acta Derm Venereol* 1990; (Suppl 153): 1-43.
- Mikulowska A: Reactive changes in the Langerhans' cells of human skin caused by occlusion with water and sodium lauryl sulphate. *Acta Derm Venereol* 1990; 70(6): 468-473.
- Miyazawa K, Ogawa M, Mitsui T: The physico-chemical properties and protein denaturation potential of surfactant mixtures. *Int J Cosmet Science* 1984; 6: 33-46.
- Murahata R, Crove DM, Roheim JR: The use of transepidermal water loss to measure and predict the irritation response to surfactants. *Int J Cosmetic Science* 1986; 8: 225-231.
- Nassif A, Chan SC, Storrs FJ, Hanifin JM: Abnormal skin irritancy in atopic dermatitis and in atopy without dermatitis. *Arch Dermatol* 1994; 130(11): 1402-1407.

- Nickoloff BJ, Naidu Y: Perturbation of epidermal barrier function correlates with initiation of cytokine cascade in human skin. *J Am Acad Dermatol* 1994; 30(4): 535-546.
- Nikitakis JM, McEwen GN, Wenninger JA: CTFA International Cosmetic Ingredient Dictionary. In: The Cosmetic Toiletry and Fragrance Association Inc., ed., 4 ed. Washington DS, 1991; 549-550.
- Nilsson E, Back O: The importance of anamnestic information of atopy, metal dermatitis and earlier hand eczema for the development of hand dermatitis in women in wet hospital work. *Acta Derm Venereol* 1986; 66(1): 45-50.
- Nilsson GE: Measurement of water exchange through skin. *Med Biol Eng Comput* 1977a; 15(3): 209-218.
- Nilsson GE: On the measurement of evaporative water loss. Methods and clinical applications [Dissertation]. Linköping University, Linköping, Sweden; 1977b.
- Novak E, Francom SF: Inflammatory response to sodium lauryl sulfate in aqueous solutions applied to the skin of normal human volunteers. *Contact Dermatitis* 1984; 10(2): 101-104.
- Ohlenschlaeger J, Friberg J, Ramsing D, Agner T: Temperature dependency of skin susceptibility to water and detergents. *Acta Derm Venereol* 1996; 76(4): 274-276.
- Ollmar S, Nyren M, Nicander I, Emtestam L: Electrical impedance compared with other non-invasive bioengineering techniques and visual scoring for detection of irritation in human skin. *Br J Dermatol* 1994; 130(1): 29-36.
- Orfanos, Garbe: Therapie der Hautkrankheiten., 1 ed: Springer-Verlag, 1995; 1230-1233.
- Ottey KA, Wood LC, Grunfeld C, Elias PM, Feingold KR: Cutaneous permeability barrier disruption increases fatty acid synthetic enzyme activity in the epidermis of hairless mice. *J Invest Dermatol* 1995; 104(3): 401-404.
- Panisset F, Treffel P, Faivre B, Lecomte PB, Agache P: Transepidermal water loss related to volar forearm sites in humans. *Acta Derm Venereol* 1992; 72(1): 4-5.
- Patil S, Singh P, Sarasour K, Maibach H: Quantification of sodium lauryl sulfate penetration into the skin and underlying tissue after topical application--pharmacological and toxicological implications. *J Pharm Sci* 1995; 84(10): 1240-1244.
- Pinnagoda J, Tupker RA, Agner T, Serup J: Guidelines for transepidermal water loss (TEWL) measurement. A report from the Standardization Group of the European Society of Contact Dermatitis. *Contact Dermatitis* 1990; 22(3): 164-178.

- Pinnagoda J, Tupker RA, Coenraads PJ, Nater JP: Comparability and reproducibility of the results of water loss measurements: A study of 4 evaporimeters. *Contact Dermatitis* 1989a; 20(4): 241-246.
- Pinnagoda J, Tupker RA, Coenraads PJ, Nater JP: Prediction of susceptibility to an irritant response by transepidermal water loss. *Contact Dermatitis* 1989b; 20(5): 341-346.
- Pinnagoda J, Tupker RA, Coenraads PJ, Nater JP: Transepidermal water loss with and without sweat gland inactivation. *Contact Dermatitis* 1989c; 21(1): 16-22.
- Pirila V: Chamber test versus patch test for epicutaneous testing. *Contact Dermatitis* 1975; 1(1): 48-52.
- Ramsing DW, Agner T: Efficacy of topical corticosteroids on irritant skin reactions. *Contact Dermatitis* 1995; 32(5): 293-297.
- Reed JT, Ghadially R, Elias PM: Skin type, but neither race nor gender, influence epidermal permeability barrier function. *Arch Dermatol* 1995; 131(10): 1134-1138.
- Rhein LD, Robbins CR, Fernee K, Cantore R: Surfactant structure effects on swelling of isolated stratum corneum. *J Soc Cosmet Chem* 1986; 37: 125-139.
- Robinson MK, Perkins MA, Basketter DA: Application of a 4-h human patch test method for comparative and investigative assessment of skin irritation. *Contact Dermatitis* 1998; 38(4): 194-202.
- Schreus HT: Zur Pathogenese des exsudativen Ekzematoids. *Dermatol Wochenschr* 1939; 109: 1275-1286.
- Seidenari S: Skin sensitivity, interindividual factors: atopy. The irritant contact dermatitis syndrome. Boca Raton: CRP Press, 1996; 267-277.
- Serup J, Agner T: Colorimetric quantification of erythema--a comparison of two colorimeters (Lange Micro Color and Minolta Chroma Meter CR-200) with a clinical scoring scheme and laser-Doppler flowmetry. *Clin Exp Dermatol* 1990; 15(4): 267-272.
- Serup J, Staberg B: Differentiation of allergic and irritant reactions by transepidermal water loss. *Contact Dermatitis* 1987; 16(3): 129-132.
- Shahidullah M, Raffle EJ, Rimmer AR, Frain-Bell W: Transepidermal water loss in patients with dermatitis. *Br J Dermatol* 1969; 81(10): 722-730.
- Shivji GM, Gupta AK, Sauder DN: Role of cytokines in irritant contact dermatitis. In: Rougier A., Goldberg A. M., Maibach H. I., eds. *Vitro Skin Toxicology*. New York: Liebert, 1994; 13-22.



- Smit HA, van Rijssen A, Vandenbroucke JP, Coenraads PJ: Susceptibility to and incidence of hand dermatitis in a cohort of apprentice hairdressers and nurses. *Scand J Work Environ Health* 1994; 20(2): 113-121.
- Spruit D, Malten KE: Humidity of the air and water vapour loss of the skin. The changing permeability. *Dermatologica* 1969; 138(5): 418-426.
- Thiele FA, Hemels HG, Malten KE: Skin temperature and water loss by skin. *Trans St Johns Hosp Dermatol Soc* 1972; 58(2): 218-223.
- Tovell PW, Weaver AC, Hope J, Sprott WE: The action of sodium lauryl sulphate on rat skin - an ultrastructural study. *Br J Dermatol* 1974; 90(5): 501-506.
- Tupker RA, Coenraads PJ, Fidler V, De Jong MC, van der Meer JB, De Monchy JG: Irritant susceptibility and weal and flare reactions to bioactive agents in atopic dermatitis: I. Influence of disease severity. *Br J Dermatol* 1995a; 133(3): 358-364.
- Tupker RA, Coenraads PJ, Fidler V, De Jong MC, van der Meer JB, De Monchy JG: Irritant susceptibility and weal and flare reactions to bioactive agents in atopic dermatitis: II. Influence of season. *Br J Dermatol* 1995b; 133(3): 365-370.
- Tupker RA, Coenraads PJ, Pinnagoda J, Nater JP: Baseline transepidermal water loss (TEWL) as a prediction of susceptibility to sodium lauryl sulphate. *Contact Dermatitis* 1989; 20(4): 265-269.
- Tupker RA, Pinnagoda J, Coenraads PJ, Nater JP: Susceptibility to irritants: role of barrier function, skin dryness and history of atopic dermatitis. *Br J Dermatol* 1990a; 123(2): 199-205.
- Tupker RA, Pinnagoda J, Nater JP: The transient and cumulative effect of sodium lauryl sulphate on the epidermal barrier assessed by transepidermal water loss: inter-individual variation. *Acta Derm Venereol* 1990b; 70(1): 1-5.
- Tupker RA, Willis C, Berardesca E, Lee CH, Fartasch M, Agner T, Serup J: Guidelines on sodium lauryl sulfate (SLS) exposure tests. A report from the Standardization Group of the European Society of Contact Dermatitis. *Contact Dermatitis* 1997; 37(2): 53-69.
- Uter W, Gefeller O, Schwanitz HJ: An epidemiological study of the influence of season (cold and dry air) on the occurrence of irritant skin changes of the hands. *Br J Dermatol* 1998; 138(2): 266-272.
- Van der Valk PG, Maibach HI: Potential for irritation increases from the wrist to the cubital fossa. *Br J Dermatol* 1989; 121(6): 709-712.
- van der Valk PG, Nater JP, Bleumink E: Skin irritancy of surfactants as assessed by water vapor loss measurements. *J Invest Dermatol* 1984; 82(3): 291-293.

- van der Valk PG, Nater JP, Bleumink E: Vulnerability of the skin to surfactants in different groups of eczema patients and controls as measured by water vapour loss. *Clin Exp Dermatol* 1985; 10(2): 98-103.
- van Neste D, de Brouwer B: Monitoring of skin response to sodium lauryl sulphate: clinical scores versus bioengineering methods. *Contact Dermatitis* 1992; 27(3): 151-156.
- Varani J, Astrom A, Griffiths CE, Voorhees JJ: Induction of proliferation of growth-inhibited keratinocytes and fibroblasts in monolayer culture by sodium lauryl sulfate: comparison with all-trans retinoic acid. *J Invest Dermatol* 1991; 97(5): 917-921.
- von den Driesch P, Fartasch M, Huner A, Ponc M: Expression of integrin receptors and ICAM-1 on keratinocytes in vivo and in an in vitro reconstructed epidermis: Effect of sodium dodecyl sulphate. *Arch Dermatol Res* 1995; 287(3-4): 249-253.
- Wahlberg JE: Occupational allergic contact dermatitis. In: Kimer I., Maurer T., eds. *Toxicology of Contact Hypersensitivity*. London: Taylor & Francis, 1996; 57 - 74.
- Webb EF, Tzimas MN, Newsholme SJ, Griswold DE: Intralesional cytokines in chronic oxazolone-induced contact sensitivity suggest roles for tumor necrosis factor alpha and interleukin-4. *J Invest Dermatol* 1998; 111(1): 86-92.
- Whittle E, Carter J, Wolfreys A, Basketter DA: HaCaT-derived cytokine response to noxious agents. *J Invest Dermatol* 1995; 104: 562.
- Whitton JT, Overall JD: The thickness of the epidermis. *Br J Dermatol* 1973; 89 (5): 467-476.
- Wigger-Alberti W, Rougier A, Richard A, Elsner P: Efficacy of protective creams in a modified repeated irritation test. Methodological aspects. *Acta Derm Venereol* 1998; 78(4): 270-273.
- Wilhelm KP: Prevention of surfactant-induced irritant contact dermatitis. *Curr Probl Dermatol* 1996; 25: 78-85.
- Wilhelm KP, Cua AB, Maibach HI: Skin aging. Effect on transepidermal water loss, stratum corneum hydration, skin surface pH, and casual sebum content. *Arch Dermatol* 1991; 127(12): 1806-1809.
- Wilhelm KP, Freitag G, Wolff HH: Surfactant-induced skin irritation and skin repair: Evaluation of a cumulative human irritation model by noninvasive techniques. *J Am Acad Dermatol* 1994; 31(6): 981-987.
- Wilhelm KP, Maibach HI: Susceptibility to irritant dermatitis induced by sodium lauryl sulfate. *J Am Acad Dermatol* 1990a; 23(1): 122-124.
- Wilhelm KP, Saunders JC, Maibach HI: Increased stratum corneum turnover induced by subclinical irritant dermatitis. *Br J Dermatol* 1990b; 122(6): 793-798.

- Wilhelm KP, Surber C, Maibach HI: Quantification of sodium lauryl sulfate irritant dermatitis in man: comparison of four techniques: skin color reflectance, transepidermal water loss, laser Doppler flow measurement and visual scores. *Arch Dermatol Res* 1989; 281(4): 293-295.
- William IR, Kupper TS: Immunity at the surface: homeostatic mechanism of the skin immune system.: *Life Sci.* 58, 1996; 1485-1507.
- Willis CM, Stephens CJ, Wilkinson JD: Epidermal damage induced by irritants in man: A light and electron microscopic study. *J Invest Dermatol* 1989; 93(5): 695-699.
- Willis CM, Stephens CJ, Wilkinson JD: Differential effects of structurally unrelated chemical irritants on the density and morphology of epidermal CD1+ cells. *J Invest Dermatol* 1990; 95(6): 711-716.
- Willis CM, Stephens CJ, Wilkinson JD: Selective expression of immune-associated surface antigens by keratinocytes in irritant contact dermatitis. *J Invest Dermatol* 1991; 96(4): 505-511.
- Willis CM, Stephens CJ, Wilkinson JD: Differential effects of structurally unrelated chemical irritants on the density of proliferating keratinocytes in 48 h patch test reactions. *J Invest Dermatol* 1992; 99(4): 449-453.
- Willis CM, Stephens CJ, Wilkinson JD: Differential patterns of epidermal leukocyte infiltration in patch test reactions to structurally unrelated chemical irritants. *J Invest Dermatol* 1993; 101(3): 364-370.
- Wilmer JL, Burleson FG, Kayama F, Kanno J, Luster MI: Cytokine induction in human epidermal keratinocytes exposed to contact irritants and its relation to chemical-induced inflammation in mouse skin. *J Invest Dermatol* 1994; 102(6): 915-922.
- Wood LC, Elias PM, Sequeira-Martin SM, Grunfeld C, Feingold KR: Occlusion lowers cytokine mRNA levels in essential fatty acid-deficient and normal mouse epidermis, but not after acute barrier disruption. *J Invest Dermatol* 1994a; 103(6): 834-838.
- Wood LC, Feingold KR, Sequeira-Martin SM, Elias PM, Grunfeld C: Barrier function coordinately regulates epidermal IL-1 and IL-1 receptor antagonist mRNA levels. *Exp Dermatol* 1994b; 3(2): 56-60.
- Wood LC, Jackson SM, Elias PM, Grunfeld C, Feingold KR: Cutaneous barrier perturbation stimulates cytokine production in the epidermis of mice. *J Clin Invest* 1992; 90(2): 482-487.
- York M, Basketter DA, Cuthbert JA, Neilson L: Skin irritation testing in man for hazard assessment - evaluation of four patch systems. *Hum Exp Toxicol* 1995; 14(9): 729-734.

Zepter K, Haffner A, Soohoo LF, De Luca D, Tang HP, Fisher P, Chavinson J, Elmetts CA: Induction of biologically active IL-1 beta-converting enzyme and mature IL-1 beta in human keratinocytes by inflammatory and immunologic stimuli. J Immunol 1997; 159(12): 6203-6208.

## Anhang

### Tabellenverzeichnis des Anhangs

Tabelle 1: Deskriptive Statistik anamnestischer Daten.....	116
Tabelle 2: Geschlechtsverteilung.....	116
Tabelle 3: Hautempfindlichkeit.....	116
Tabelle 4: Ekzemanamnese .....	116
Tabelle 5 : TEWL-Werte [g/m <sup>2</sup> h] dreifaktoriell aufgeteilt nach c, Zeit und VB.....	117
Tabelle 6: Werte des VS dreifaktoriell aufgeteilt nach c, Zeit und VB .....	118
Tabelle 7: Werte des EI dreifaktoriell aufgeteilt nach c, Zeit und VB.....	119
Tabelle 8: Werte der HY dreifaktoriell aufgeteilt nach c, Zeit und VB.....	120
Tabelle 9: Deskriptive Auswertung der einzelnen Meßmethoden (einfaktoriell).....	121
Tabelle 10: Geschlechtsspezifische TEWL-Basis-Werte [g/m <sup>2</sup> h] .....	121
Tabelle 11: Zeitverlauf der TEWL-Werte (einfaktoriell).....	121
Tabelle 12: Konzentrationsvergleich der TEWL- Werte [g/m <sup>2</sup> h] .....	121
Tabelle 13: Vergleich TEWL-Werte verschiedener VB.....	121
Tabelle 14: Konzentrationsvergleich des VS .....	122
Tabelle 15: Vergleich VS verschiedener VB.....	122
Tabelle 16: Vergleich EI verschiedener VB .....	122
Tabelle 17: Vergleich HY verschiedener VB.....	122
Tabelle 18: TEWL- und $\Delta$ TEWL-Werte [g/m <sup>2</sup> h] bei erhöhtem Basis-TEWL.....	123
Tabelle 19: Korrelation TEWL und VS.....	123
Tabelle 20: Korrelationen TEWL und HY.....	123
Tabelle 21: Korrelationen EI und VS .....	123
Tabelle 22: Vergleich absoluter/ relativer Testwerte aller Meßmethoden.....	123
Tabelle 23: Sondertestung: TEWL [g/ m <sup>2</sup> h] aqua dest./ NLS bei VB 1 und 5.....	124
Tabelle 24: Sondertestung: Vergleich aqua dest./ NLS bei VB 1 und 5 .....	124

## Tabellen

	Anzahl	x	Max.	Min.	s
Alter	36	39,0	60	22	14,8
Atopiescore	36	4,1	9	0	2,4
Hautempfindlichkeit	36	1,7	3	1	0,7

Tabelle 1: Deskriptive Statistik anamnestischer Daten

Geschlecht	Häufigkeit in der Studie	Prozent
Männlich	15	41,7
Weiblich	21	58,3
Gesamt	36	100,0

Tabelle 2: Geschlechtsverteilung

Hautempfindlichkeit	Häufigkeit in der Studie	Prozent
Gering	16	44,4
Mäßig	15	41,7
Stark	5	13,9
Gesamt	36	100,0

Tabelle 3: Hautempfindlichkeit

Ekzemanamnese	Häufigkeit in der Studie	Prozent
Ja	9	25,0
Nein	27	75,0
Gesamt	36	100,0

Tabelle 4: Ekzemanamnese

c [%]	Zeit [h]	Vorbehandlung (VB)											
		Keine VB = 1				Prick mit Lanzette = 2				Prick mit Teststempel = 3			
		x	Max.	Min.	s	x	Max.	Min.	s	x	Max.	Min.	s
0,5	24	47,9	102,5	10,0	21,3	42,2	79,9	12,0	17,5	40,4	98,2	13,9	19,2
0,5	72	29,3	53,6	8,6	9,8	29,2	54,0	9,8	10,2	29,2	48,0	10,2	10,5
1	24	72,6	142,3	23,7	26,1	62,9	117,6	12,6	28,3	56,0	106,0	13,8	26,6
1	72	36,1	69,1	19,5	12,1	32,0	50,2	9,6	11,8	32,5	53,6	10,4	11,4
2	4	48,9	97,7	10,7	25,1	43,1	112,5	13,1	24,5	39,2	89,4	10,6	21,5
2	24	39,8	103,5	6,0	23,0	35,6	88,5	6,5	20,9	34,3	69,6	6,3	19,2
2	72	20,6	39,4	5,6	8,9	19,1	36,1	6,1	7,8	19,3	36,5	6,5	8,6
5	4	59,3	117,3	11,3	28,8	58,3	120,0	11,9	29,7	55,2	119,3	12,1	29,3
5	24	55,8	122,5	10,4	28,8	53,2	117,0	7,3	29,0	49,4	114,4	8,1	28,3
5	72	28,1	99,8	7,4	18,6	27,4	90,5	7,6	17,0	26,4	74,8	8,1	14,3

c [%]	Zeit [h]	Vorbehandlung (VB)							
		Scratch mit Lanzette = 4				Standardisierte Inzision = 5			
		x	Max.	Min.	s	x	Max.	Min.	s
0,5	24	43,0	72,0	19,6	13,7	47,7	76,0	18,9	13,4
0,5	72	27,1	50,5	7,9	10,8	21,1	42,9	9,3	8,3
1	24	58,5	101,8	26,1	21,2	59,6	99,1	31,9	18,5
1	72	31,0	51,9	12,7	11,1	27,6	44,5	11,7	9,5
2	4	55,8	118,5	23,1	21,7	65,1	125,0	29,5	22,3
2	24	46,1	92,8	8,4	21,3	55,6	102,4	19,6	20,0
2	72	22,0	39,3	7,3	9,8	22,7	42,2	9,5	9,0
5	4	62,8	126,8	23,1	29,1	74,1	121,5	30,1	23,4
5	24	53,1	123,7	13,5	27,6	61,6	107,9	17,6	20,1
5	72	25,3	65,3	8,8	12,3	24,8	54,8	8,8	11,1

Tabelle 5 : TEWL-Werte [g/m²h] dreifaktoriell aufgeteilt nach c, Zeit und VB

c [%]	Zeit [h]	Vorbehandlung (VB)											
		Keine VB = 1				Prick mit Lanzette = 2				Prick mit Teststempel = 3			
		Median	Max.	Min.		Median	Max.	Min.		Median	Max.	Min.	
0,5	24	1,0	3,0	0		1,0	2,0	0		0,5	2,0	0	
0,5	72	1,0	2,0	0		1,0	3,0	0		1,0	3,0	0	
1	24	2,0	3,0	0		2,0	3,0	0		2,0	3,0	0	
1	72	2,0	4,0	0		2,0	3,0	0		1,0	3,0	0	
2	4	1,0	3,0	0		0,5	3,0	0		0,5	3,0	0	
2	24	1,0	3,0	0		0,5	3,0	0		0,5	2,0	0	
2	72	0,5	3,0	0		0,3	2,0	0		0,3	2,0	0	
5	4	1,0	4,0	0		1,0	3,0	0		1,0	3,0	0	
5	24	1,0	4,0	0		1,0	3,0	0		1,0	3,0	0	
5	72	1,0	4,0	0		0,5	4,0	0		0,5	4,0	0	

c [%]	Zeit [h]	Vorbehandlung (VB)							
		Scratch mit Lanzette = 4				Standardisierte Inzision = 5			
		Median	Max.	Min.		Median	Max.	Min.	
0,5	24	0,5	2,0	0		0,5	1,0	0	
0,5	72	0,5	3,0	0		0,5	1,0	0	
1	24	1,0	2,0	0		0,8	2,0	0	
1	72	1,0	3,0	0		1,0	2,0	0	
2	4	1,0	3,0	0		1,0	3,0	0	
2	24	0,5	2,0	0		0,8	2,0	0	
2	72	0,5	2,0	0		0,5	2,0	0	
5	4	1,0	3,0	0		1,0	3,0	0	
5	24	0,8	2,0	0		1,0	2,0	0	
5	72	0,5	2,0	0		0,5	2,0	0	

Tabelle 6: Werte des VS dreifaktoriell aufgeteilt nach c, Zeit und VB



c [%]	Zeit [h]	Vorbehandlung (VB)											
		Keine VB = 1				Prick mit Lanzette = 2				Prick mit Teststempel = 3			
		x	Max.	Min.	s	x	Max.	Min.	s	x	Max.	Min.	s
0,5	24	629,2	689,0	565,0	31,5	623,5	684,0	543,0	31,3	618,9	666,0	546,0	30,7
0,5	72	644,0	693,0	570,0	28,9	637,1	688,0	565,0	29,0	631,9	695,0	565,0	30,1
1	24	637,6	689,0	542,0	29,7	632,8	692,0	554,0	31,1	626,8	679,0	561,0	29,3
1	72	650,8	703,0	598,0	27,2	644,7	700,0	574,0	32,7	640,7	693,0	568,0	30,7
2	4	633,0	691,0	538,0	33,7	623,4	714,0	535,0	34,8	621,4	697,0	542,0	32,9
2	24	643,2	691,0	568,0	32,0	636,8	699,0	560,0	35,1	632,2	685,0	565,0	31,5
2	72	633,1	691,0	548,0	30,5	624,6	699,0	523,0	33,9	623,8	682,0	566,0	28,4
5	4	633,5	703,0	549,0	35,2	626,4	706,0	564,0	32,2	623,7	695,0	542,0	34,9
5	24	646,7	706,0	579,0	34,4	643,9	699,0	578,0	31,6	641,6	694,0	562,0	36,6
5	72	640,0	706,0	548,0	33,8	634,3	705,0	566,0	31,8	631,7	684,0	562,0	32,6

c [%]	Zeit [h]	Vorbehandlung (VB)							
		Scratch mit Lanzette = 4				Standardisierte Inzision = 5			
		x	Max.	Min.	s	x	Max.	Min.	s
0,5	24	617,4	677,0	544,0	26,8	618,6	669,0	558,0	25,9
0,5	72	629,7	689,0	569,0	30,4	624,9	675,0	546,0	30,2
1	24	625,2	664,0	578,0	23,4	622,0	667,0	559,0	25,5
1	72	635,2	680,0	553,0	27,4	629,8	681,0	585,0	28,4
2	4	627,3	689,0	532,0	29,3	623,1	681,0	563,0	27,3
2	24	648,6	708,0	567,0	30,6	648,6	704,0	595,0	27,7
2	72	633,7	676,0	589,0	25,8	635,7	683,0	560,0	26,9
5	4	625,6	676,0	562,0	27,8	621,1	668,0	567,0	26,5
5	24	643,7	690,0	569,0	31,8	651,3	694,0	598,0	27,3
5	72	634,6	686,0	566,0	28,9	637,4	677,0	579,0	27,3

Tabelle 7: Werte des EI dreifaktoriell aufgeteilt nach c, Zeit und VB

c [%]	Zeit [h]	Vorbehandlung (VB)											
		Keine VB = 1				Prick mit Lanzette = 2				Prick mit Teststempel = 3			
		x	Max.	Min.	s	x	Max.	Min.	s	x	Max.	Min.	s
0,5	24	81,6	112	58	13,4	77,2	107	41	14,2	74,7	112	42	16,3
0,5	72	56,4	87	20	17,6	59,9	85	23	15,5	59,8	85	24	17,1
1	24	87,8	112	47	16,0	85,0	116	42	17,5	79,1	117	41	17,3
1	72	38,6	75	13	15,0	46,3	83	20	16,7	51,0	82	20	17,3
2	4	86,5	121	62	14,5	80,7	119	56	13,7	75,2	121	49	15,6
2	24	80,6	100	49	11,6	79,7	102	40	12,4	77,2	97	41	12,7
2	72	53,9	83	16	19,8	60,4	83	14	18,4	60,4	83	18	15,8
5	4	88,2	124	61	17,9	83,0	124	37	21,8	79,6	123	44	20,2
5	24	84,0	103	49	11,5	80,9	102	44	13,6	78,7	104	40	14,5
5	72	49,6	83	22	19,2	51,6	85	22	18,0	52,6	87	12	18,8

c [%]	Zeit [h]	Vorbehandlung (VB)							
		Scratch mit Lanzette = 4				Standardisierte Inzision = 5			
		x	Max.	Min.	s	x	Max.	Min.	s
0,5	24	67,4	94	42	12,7	64,4	99	37	14,1
0,5	72	57,5	74	31	10,3	55,4	70	30	9,2
1	24	71,1	101	42	15,4	68,1	96	42	14,2
1	72	48,3	75	23	13,1	47,1	67	24	11,2
2	4	72,1	104	52	12,8	70,7	108	46	15,2
2	24	69,8	92	37	12,1	64,4	82	38	10,6
2	72	55,4	79	18	14,9	50,8	72	22	12,1
5	4	75,7	121	38	20,4	73,7	116	44	16,7
5	24	72,7	104	42	12,4	63,6	92	38	11,0
5	72	50,6	79	18	15,6	47,8	66	17	13,3

Tabelle 8: Werte der HY dreifaktoriell aufgeteilt nach c, Zeit und VB

	x	Max.	Min.	s
Basis-TEWL [g/m <sup>2</sup> h]	7,0	14,9	3,5	2,4
TEWL allgemein [g/m <sup>2</sup> h]	42,2	74,1	19,1	15,4
VS	Median 1,0	2,0	0,3	
Basis-EI	594,8	679,0	532,0	28,8
EI	632,7	651,3	617,4	9,2
Basis-HY	68,7	103,0	47,0	9,4
HY	66,9	88,2	38,6	13,4

Tabelle 9: Deskriptive Auswertung der einzelnen Meßmethoden (einfaktoriell)

Geschlecht	x	Max.	Min.	s
Männlich	8,2	13,8	4,3	2,8
Weiblich	6,2	10,1	4,3	1,6

Tabelle 10: Geschlechtsspezifische TEWL-Basis-Werte [g/m<sup>2</sup>h]

Zeit [h]	x TEWL [g/m <sup>2</sup> h]	s TEWL [g/m <sup>2</sup> h]
4	56,2	27,3
24	50,8	24,4
72	26,5	12,2

Tabelle 11: Zeitverlauf der TEWL-Werte (einfaktoriell)

c [% NLS]	Zeit [h]	VB 1	VB 2	VB 3	VB 4	VB 5
0,5/ 1	24	p<0,001	p<0,001	p<0,01	p<0,001	p<0,01
0,5/ 1	72	p<0,01	NS	NS	NS	p<0,01
2/ 5	4	NS	p<0,05	p<0,01	NS	NS
2/ 5	24	p<0,05	p<0,01	p<0,01	NS	NS
2/ 5	72	p<0,05	p<0,01	p<0,05	NS	NS

Tabelle 12: Konzentrationsvergleich der TEWL- Werte [g/m<sup>2</sup>h]

Zeit [h]	VB	c 0,5 %	c 1 %	c 2 %	c 5 %
4	1/ 2			NS	NS
4	1/ 3			NS	NS
4	1/ 4			NS	NS
4	1/ 5			p<0,01	p<0,05
24	1/ 2	NS	NS	NS	NS
24	1/ 3	NS	p<0,01	NS	NS
24	1/ 4	NS	p<0,05	NS	NS
24	1/ 5	NS	p<0,05	p<0,01	NS
72	1/ 2	NS	NS	NS	NS
72	1/ 3	NS	NS	NS	NS
72	1/ 4	NS	NS	NS	NS
72	1/ 5	p<0,001	p<0,001	NS	NS

Tabelle 13: Vergleich TEWL-Werte verschiedener VB

c [% NLS]	Zeit [h]	
0,5/ 1	24	p<0,001
0,5/ 1	72	p<0,001
2/ 5	4	p<0,01
2/ 5	24	p<0,05
2/ 5	72	p<0,001

Tabelle 14: Konzentrationsvergleich des VS

VB	4 h	24 h	72 h
1/ 2	NS	p<0,01	p<0,05
1/ 3	NS	p<0,001	p<0,01
1/ 4	NS	p<0,001	p<0,001
1/ 5	NS	p<0,001	p<0,001

Tabelle 15: Vergleich VS verschiedener VB

Zeit [h]	VB	c 0,5 %	c 1 %	c 2 %	c 5 %
4	1/ 2			NS	NS
4	1/ 3			NS	NS
4	1/ 4			NS	NS
4	1/ 5			NS	NS
24	1/ 2	NS	NS	NS	NS
24	1/ 3	NS	NS	NS	NS
24	1/ 4	NS	NS	NS	NS
24	1/ 5	NS	p<0,05	NS	NS
72	1/ 2	NS	NS	NS	NS
72	1/ 3	NS	NS	NS	NS
72	1/ 4	p<0,05	p<0,05	NS	NS
72	1/ 5	p<0,01	p<0,01	NS	NS

Tabelle 16: Vergleich EI verschiedener VB

Zeit [h]	VB	c 0,5 %	c 1 %	c 2 %	c 5 %
4	1/ 2			NS	NS
4	1/ 3			p<0,01	NS
4	1/ 4			p<0,001	p<0,01
4	1/ 5			p<0,001	p<0,001
24	1/ 2	NS	NS	NS	NS
24	1/ 3	NS	p<0,05	NS	NS
24	1/ 4	p<0,001	p<0,001	p<0,001	p<0,001
24	1/ 5	p<0,001	p<0,001	p<0,001	p<0,001
72	1/ 2	NS	p<0,05	NS	NS
72	1/ 3	NS	p<0,01	NS	NS
72	1/ 4	NS	p<0,01	NS	NS
72	1/ 5	NS	p<0,01	NS	NS

Tabelle 17: Vergleich HY verschiedener VB

Proband	Geschlecht	Basis TEWL	x TEWL 4 h	$\Delta$ TEWL 4 h	x TEWL 24 h	$\Delta$ TEWL 24 h	x TEWL 72 h	$\Delta$ TEWL 72 h
3	Männlich	13,8	89,6	75,8	63,4	49,6	40,1	26,3
21	Weiblich	8,3	82,4	74,1	81,4	73,1	47,0	38,7
22	Weiblich	9,0	44,5	35,5	38,9	29,9	25,1	16,1
28	Weiblich	10,1	79,4	69,3	71,2	61,1	36,6	26,5
31	Männlich	11,3	114,4	103,1	94,1	82,8	39,2	27,9
32	Männlich	11,8	81,3	69,5	69,4	57,6	35,3	23,5
Allgemein			56,2	49,2	50,8	43,7	26,5	19,5
x +/- s			+/- 27,3	+/- 26,1	+/- 24,4	+/- 23,52	+/- 12,2	+/- 11,3

Tabelle 18: TEWL- und  $\Delta$ TEWL-Werte [g/m<sup>2</sup>h] bei erhöhtem Basis-TEWL  
(Geschlechtsspezifische Basis-TEWL-Werte siehe Tabelle 10)

c [%]	r TEWL/ VS	VB	r TEWL/ VS	Zeit [h]	r TEWL/ VS
0,5	p<0,001	1	p<0,001	4	p<0,001
1	p<0,001	2	p<0,001	24	p<0,001
2	p<0,001	3	p<0,001	72	p<0,001
5	p<0,001	4	p<0,001		
		5	p<0,001		

Tabelle 19: Korrelation TEWL und VS

c [%]	r TEWL/ HY	VB	r TEWL/ HY	Zeit [h]	r TEWL/ HY
0,5	p<0,01	1	p<0,01	4	p<0,001
1	p<0,01	2	p<0,01	24	p<0,001
2	p<0,05	3	p<0,01	72	p<0,001 neg.
5	NS	4	p<0,01		
		5	p<0,01		

Tabelle 20: Korrelationen TEWL und HY

c [%]	r VS / Erythem	VB	r VS / Erythem	Zeit [h]	r VS / Erythem
0,5	p<0,05	1	NS	4	p<0,001
1	p<0,05	2	NS	24	p<0,001
2	NS	3	NS	72	p<0,001
5	NS	4	NS		
		5	NS		

Tabelle 21: Korrelationen EI und VS

Mittelwerte der Meßmethoden	x	Min.	Max.	s	Spannweite
TEWL absolut [g/m <sup>2</sup> h]	42,2	19,1	74,1	15,4	55,0
TEWL relativ [g/m <sup>2</sup> h]	34,6	2,1	67,0	16,0	64,9
EI absolut	632,7	617,4	651,3	9,2	33,8
EI relativ	38,0	22,6	56,4	9,1	33,8
HY absolut	66,9	38,6	88,2	13,4	49,6
HY relativ	-1,8	-30,1	19,5	13,4	49,6

Tabelle 22: Vergleich absoluter/ relativer Testwerte aller Meßmethoden

Konzentration / VB	Zeit [h]	4-h-Test	24-h-Test
<b>Basiswert</b>		<b>5,4</b>	
Aqua dest. VB 1	4	14,4	
Aqua dest. VB 1	24	6,3	20,0
Aqua dest. VB 5	4	32,5	
Aqua dest. VB 5	24	25,6	27,8
0,5 % NLS VB 1	4	17,0	
0,5 % NLS VB 1	24	12,3	33,3
0,5 % NLS VB 5	4	58,6	
0,5 % NLS VB 5	24	39,1	45,3
1 % NLS VB 1	4	19,1	
1 % NLS VB 1	24	13,3	62,0
1 % NLS VB 5	4	63,4	
1 % NLS VB 5	24	55,3	43,6
2 % NLS VB 1	4	16,6	
2 % NLS VB 1	24	15,0	40,8
2 % NLS VB 5	4	62,6	
2 % NLS VB 5	24	61,8	69,4
5 % NLS VB 1	4	17,6	
5 % NLS VB 1	24	17,4	108,8
5 % NLS VB 5	4	40,9	
5 % NLS VB 5	24	29,5	108,0

Tabelle 23: Sondertestung: TEWL [g/ m²h] aqua dest./ NLS bei VB 1 und 5

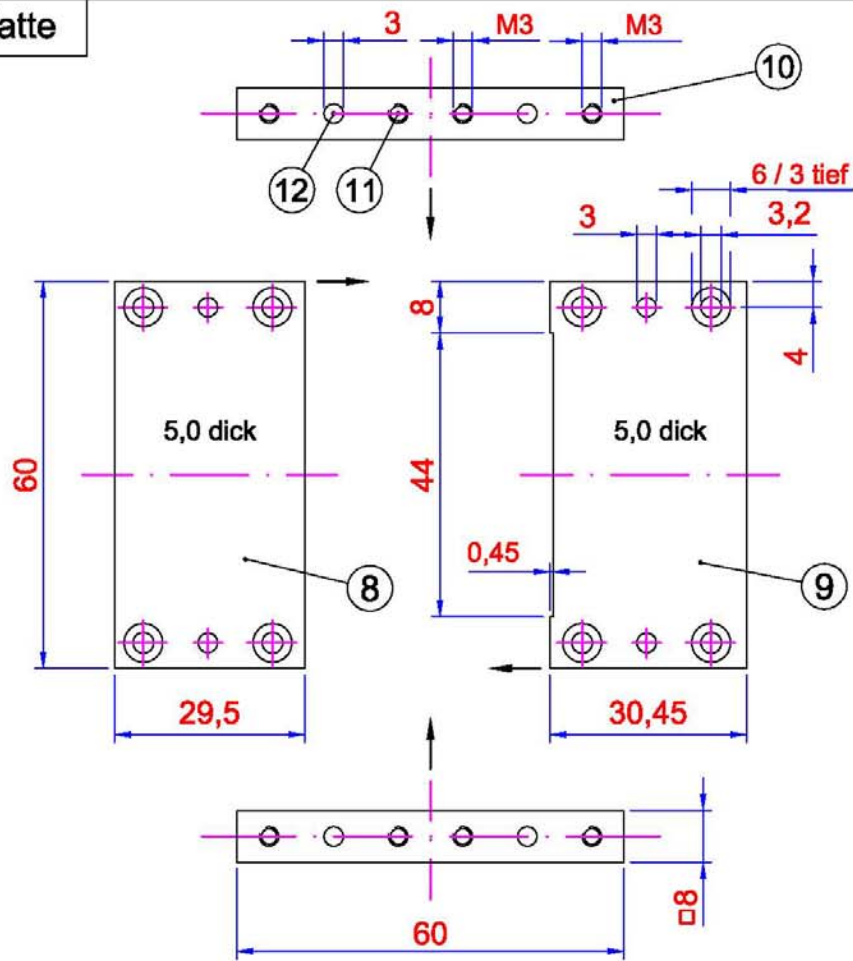
Sondertestung	4 h	24 h
Aqua des. VB 1/ aqua dest. VB 5	Δ 18,1	Δ 7,8
Aqua dest./ NLS bei VB 1	Δ 3,2	Δ 41,2
Aqua dest./ NLS bei VB 5	Δ 23,8	Δ 38,8

Tabelle 24: Sondertestung: Vergleich aqua dest./ NLS bei VB 1 und 5

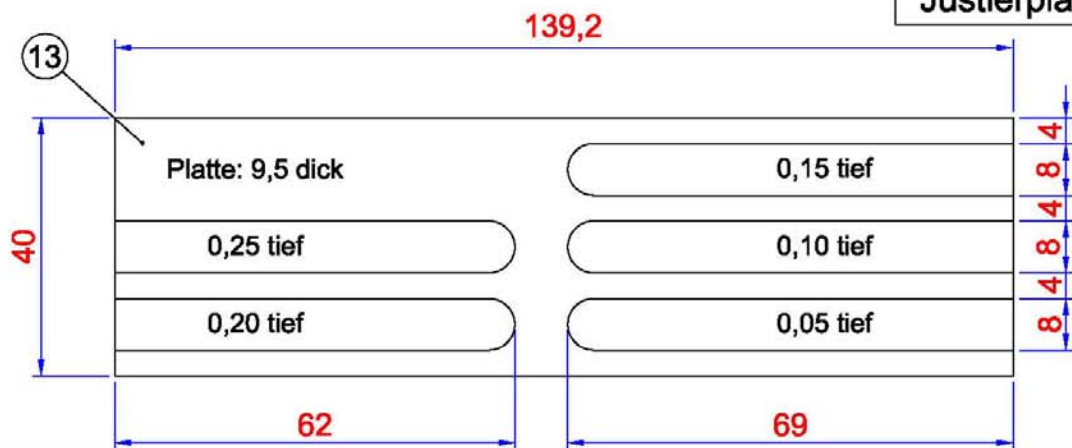
(Δ = Differenz der jeweiligen Vergleichsgruppe)

## **Zeichnung Inzisionsgerät**

# Auflageplatte



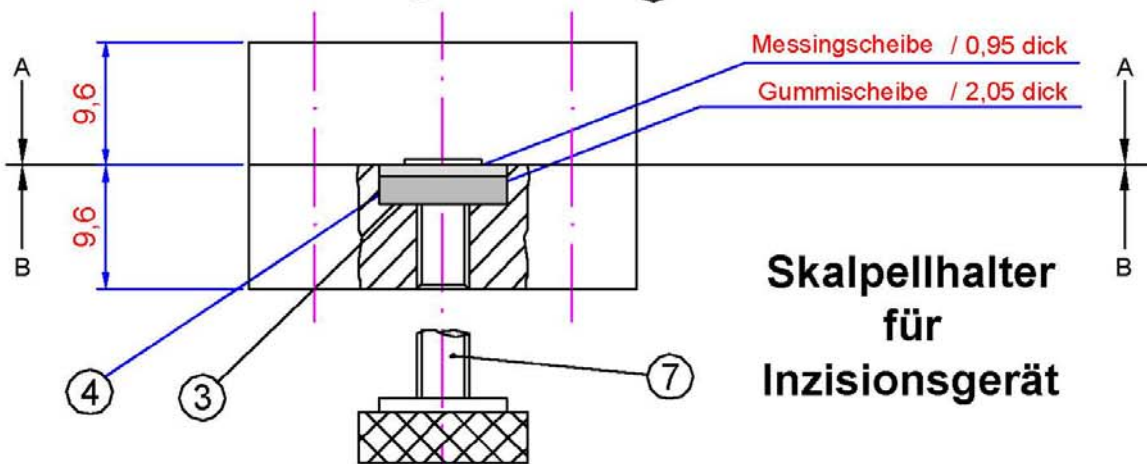
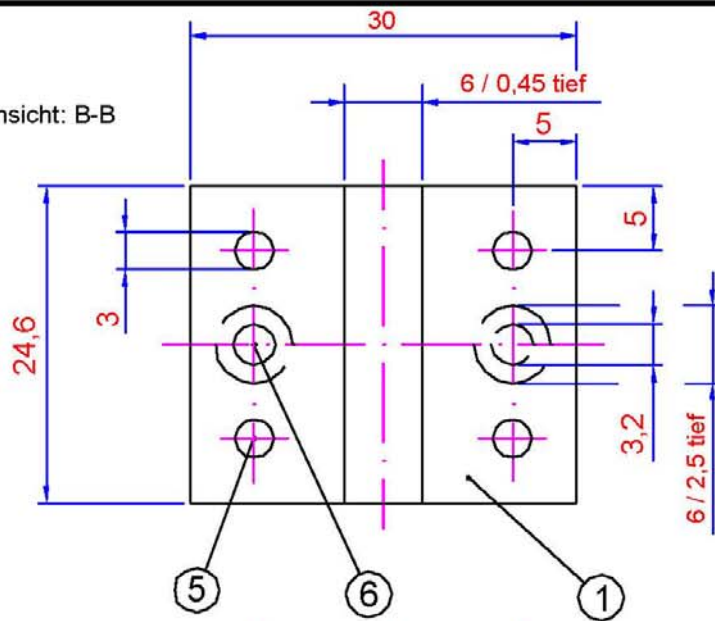
# Justierplatte



Oberfläche:  geschliffen	2003	Tag	Name	Werkstoff: <b>Messing</b>	Zeichnungs Nr.:
	Gez.:	07.08	Schmauser		
	Gepr.:			Härte:	
	Gen.:				
Kunden Nr.:	Maßstab:	Benennung:  <b>Auflage- und Justierplatte für Inzisionsgerät</b>			Blatt 1 von 2
Zeichngs. Nr. Kunde:	nicht tole- rierte Maße nach:				

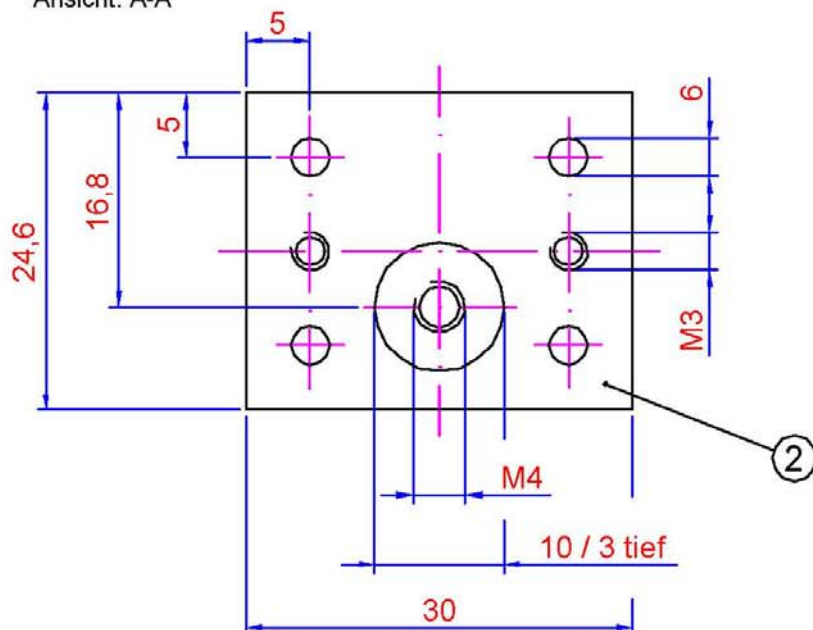


Ansicht: B-B



**Skalpellhalter  
für  
Inzisionsgerät**

Ansicht: A-A



Blatt 2 von 2

Block  
M 2:1

## **Verzeichnis der Akademischen Lehrer**

Meine akademischen Lehrer waren die Damen und Herren Professoren und Dozenten

an der **Philipps-Universität Marburg:**

Arnold, Aumüller, Barth, Basler, Baum, Celik, Cetin, Christiansen, Czubayko, Daut, Effendy, Engel, Feuser, Fruhstorfer, Gemsa, Geus, Gotzen, Grau, Griss, Grzeschik, Happle, Hasilik, Hellinger, Hesse, Himmelmann, Hofmann, Joseph, Kaiser, Kern, Klenk, Klose, König, Koolmann, Kraus, Krieg, Lang, Lennartz, Leppek, Löffler, Maisch, Mc Gregor, Moll, Moosdorf, Müller, Oertel, Pfeiffer, Radsak, Remschmidt, Renz, Richter, Rosenow, Rothmund, Schachtschabel, Schäfer, Schmitt, Schnabel, Schneyer, Schuermann, Schulz, Schurek, Seifart, Steiniger, Stiletto, Sturm, Vohland, Voigt, von Wichert, Weihe, Werner, Westermann

am **Woodend Hospital Aberdeen/ Großbritannien:**

Hamilton, Wilkinson

an der **University of California, San Fransisco/ USA:**

Berger, Maibach, Odem

an der **Louisiana State University, New Orelans/ USA:**

Ali, Randall

an der **Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg:**

Bötticher, Fartasch, Göhl, Hertl, Heyer, Mahler, Mühlberg, Schell, Schuler, Schulze, Simon, Weber

## Danksagung

Mein vornehmlicher Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. Isaak Effendy für die freundliche Überlassung des Themas, die hervorragende Betreuung der Promotion und die Selbständigkeit und Gestaltungsfreiheit, die er mir bei der Ausarbeitung der Arbeit einräumte. Er stand mir stets mit kritischen Anregungen zur Seite.

Eine wichtige Stütze bei der Planung und Ausarbeitung war mir Herr PD Dr. med. Harald Löffler, der freundlicherweise die Betreuung meiner Arbeit übernahm. Dank ihm in erster Linie für die allorts tolle Unterstützung und die gute Zusammenarbeit.

Besonders zu Dank verpflichtet fühle ich mich allen freiwilligen Probanden, die sich unentgeltlich für die Testungen zur Verfügung gestellt haben und ohne die diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Herrn Dr. Peter Zöfel † vom Hochschulrechenzentrum der Philipps-Universität Marburg danke ich für die hervorragende statistische Beratung.

Herrn Dipl.-Ing. Till M. Schmauser möchte ich für die Konstruktion des Inzisionsgerätes und der Plexiglas-Meßkammer sowie der stets konstruktiven Kritik und Diskussion meinen besonderen Dank aussprechen.

Daneben möchte ich mich bei den Mitarbeiterinnen der Allergie-Ambulanz der Dermatologischen Klinik der Philipps-Universität Marburg für die gute Zusammenarbeit bedanken.